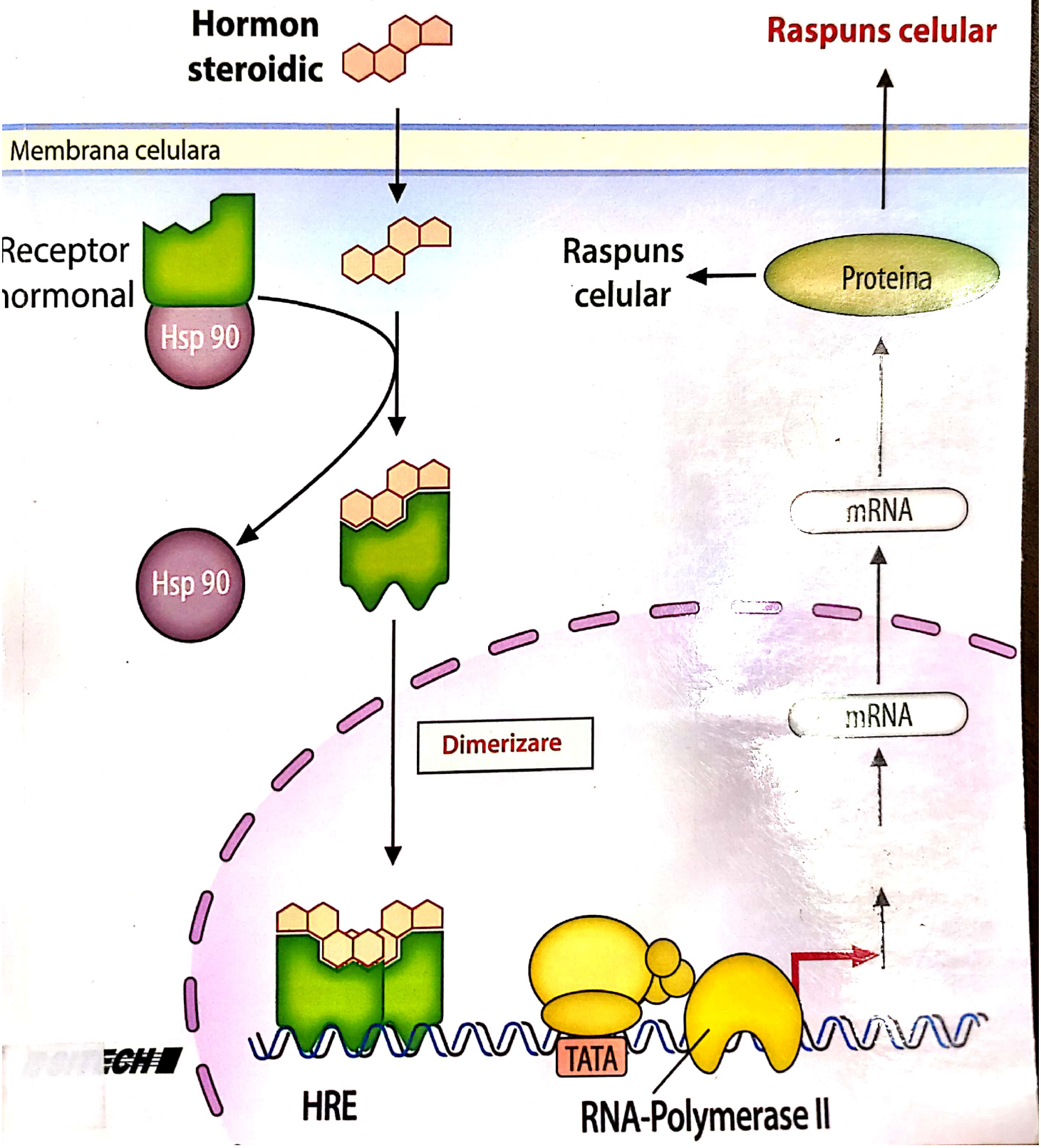
AUREL POPA

BIOCHIMIE MEDICALĂ



Scanned with OKEN Scanner

AUREL POPA

BIOCHIMIE MEDICALĂ

Note de curs pentru studenţii facultăţilor de medicină

Scanned with OKEN Scanner

Corectura aparţine autorului.

© 2019 Autorul
Toate drepturile asupra acestei ediţii sunt rezervate autorului. Orice reproducere integrală sau parţială, prin orice procedeu, a unor pagini din această lucrare, efectuate fără autorizaţia autorului este ilicită şi constituie o contrafacere. Sunt acceptate reproduceri strict rezervate utilizării sau citării justificate de interes ştiinţific, cu specificarea respectivei citări.

Editura SITECH face parte din lista editurilor româneşti acreditate de CNCSIS şi de asemenea face parte din lista editurilor cu prestigiul recunoscut de CNCS, prin CNATDCU, pentru Panelul 4.

Editura SITECH Craiova, România
Aleea Teatrului, nr. 2, Bloc T1, parter
Tel/fax: 0251/414003
E-mail: editurasitech@yahoo.com; office@sitech.ro

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
POPA, AUREL
Biochimie medicală: note de curs pentru studenţii facultăţilor de medicină / Aurel Popa. - Craiova : Sitech, 2019
ISBN 978-606-11-6672-5

577.1:61(076.8)

BIBLIOTECA JUDEŢEANĂ "GH. ASACHI" IAŞI

ISBN 978-606-11-6672-5

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Partea I. BIOCHIMIE STRUCTURALA

Capitolul 1 Apa și sistemele tampon 1
Sistemul tampon bicarbonat 6
Rolul rinichiului în menținerea pH-ului 7
Patobiochimia homeostaziei apei 8

Capitolul 2 Aminoacizii si Peptide.....11
Aminoacizi. Structura si functie. Patobiochimie 12
Peptide 19
Hormoni peptidici 22
Patobiochimie 27

Capitolul 3 Proteine 29
Clasificarea proteinelor 29
Structura proteinelor 29
Relația structură-funcție pentru colagen 33
Patobiochimie 34
Alterarea Conformației Proteinelor în Bolile Neurodegenerative 35
Cromoproteine 39
Structura si funcțiile hemoglobinei 41
Patobiochimie 43

Capitolul 4 Enzime 47
Clasificarea enzimelor 48
Interacția enzimă – substrat 50
Cinetică enzimatică 53
Inhibitori enzimatici 55
Importanța clinică 56
Enzimele allosterice 58
Mecanisme de reglare prin scindare proteolitică 59
Principii generale de reglare metabolică 61

Capitolul 5 Vitamine 67
Nomenclatura și clasificarea vitaminelor 67
Rolul vitaminelor în procesele metabolice 67
Vitaminele hidrosolubile. Patobiochimie 69
Vitamine liposolubile. Patobiochimie 78

Capitolul 6 Glucide 87
Clasificarea glucidelor 87
Stereoizomeria monozaharidelor 88
Proprietăți chimice ale monozaharidelor 91
Aplicații clinice 93
Dizaharide si polizaharide importante pentru organismul uman 93
Glicozaminoglicanii 97
Glicoconjugati . Patobiochimie 98
Gangliozidele 101
Grupele de sânge 102

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 7 Lipide **106**
Clasificare 106
Lipide simple, Acizi grasi 107
Importanța clinică a acizilor grași nesaturați 110
Patobiochimie 112
Lipide complexe 115
Importanța clinică a sfingolipidelor. Patobiochimie 121
Sterolii 126
Patobiochimie 128
Lipidomul uman 131
Lipoproteine 133
Patobiochimie 139

Capitolul 8 Nucleotide și Acizii nucleici **141**
Acizi nucleici. Structura si functie. Patobiochimie. 141
Reglarea expresiei genice
Sinteza proteinelor. Patobiochimie. 182
Genomica si medicina personalizata 190

II. METABOLISME. BIOCHIMIE INTEGRATIVA. Patobiochimie. 191
Introducere in Metabolisme .....
Capitolul 9 Metabolismul glucidic **200**
Digestia şi absorbţia glucidelor 200
Metabolismul glicogenului. Patobiochimie. 206
Căile de metabolizare ale glucozei. Patobiochimie. 212
Calea pentozofosfaţilor. Patobiochimie. 233
Metabolismul unor dizaharide importante. Patobiochimie. 240
Sinteza glicozidelor, glicoproteinelor şi glicolipidelor. Patobiochimie. 242

Capitolul 10 Metabolismul lipidic **251**
Digestia şi transportul lipidelor alimentare 251
Generarea de ATP din acizi graşi şi corpi cetonici 259
Căi alternative de oxidare a acizilor graşi 263
Metabolismul corpilor cetonici 265
Sinteza acizilor graşi 269
Metabolismul triacilglicerolilor 276
Metabolismul glicerofosfolipidelor şi sfingolipidelor 280
Metabolismul colesterolului şi lipoproteinelor plasmatice. Patobiochimie. 282

Capitolul 11 Mediatorii chimici si celulari ai inflamaţiei **305**
Inflamația, ateroscleroza și afecțiunile arterei coronare 312
Mediatorii celulari ai inflamației. Patobiochimie. 324

Capitolul 12 Energetica celulara **328**
Ciclul acizilor tricarboxilici, cale amfibolică 333
Lanţul transportorilor de hidro gen şi electroni. Fosforilarea oxidativă 335
Compuşii macroergici. Ciclul ADP-ATP. Patobiochimie. 340
Travaliul muscular 343
Metabolismul etanolului 348

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 13 Metabolismul proteinelor si acizilor nucleici.....354
Digestia şi absorbţia proteinelor 354
Dezaminarea oxidativă a aminoacizilor (transaminare) 357
Ciclul ureogenetic 360
Biosinteza aminoacizilor şi căile de degradare specifice 362
Compuşi cu funcţii speciale derivaţi din aminoacizi 370
Fierul circulant 375
Patobiochimie. Deficienţe ale enzimelor implicate în sinteza hem-ului 376
Balanţa azotată. Fondul de aminoacizi 380
Patobiochimie 385
Metabolismul nucleotidele purinice şi pirimidinice 388
Patobiochimia metabolismului purinelor si pirimidinelor 392

Capitolul 14 Hormoni. Cai de semnalizare.....395
Hormoni pancreatici 396
Cai de semnalizare implicate in angiogeneza 401
Hormonii hipotalamici reglatori şi ai glandei pituitare 406
Patobiochimia adenohipofizei 410
Hormonii tiroidieni 413
Patobiochimia glandei tiroide 416
Hormonii glandei suprarenale 416
Mecanismul de acţiune al hormonilor steroidici 417
Hormonii sexuali 423

Capitolul 15 Biochimie metabolica integrativa.....427
I. Reglarea hipotalamică a metabolismului energetic 427
Rolul acizilor graşi în homeostazia energetică 428
II. Reglarea neuroendocrină a presiunii arteriale 432
Sistemul renină-angiotensină-aldosteron 436
Alţi hormoni implicaţi în controlul ten-siunii arteriale 439
Ţesutul adipos şi adipokine 440
III. Homeostazia lichidelor organismului 441
Senzorul de Na în sistemul nervos central 443
Osmosenzorii în creier 444
Rolul rinichiului în menţinerea echilibrului hiroelectrolitic 445

Bibliografie 447

Scanned with OKEN Scanner

CUVÂNT INTRODUCTIV

Aceasta carte este dedicata pregatirii examenului de biochimie pentru studentii de la facultațile de medicină și reflectă experienta acumulată in două sisteme de învațamant, cel din Germania unde am activat 30 de ani și cel din Romania, unde am studiat, si unde din 2008 sunt profesor universitar titular la Universitatea de Medicina si Farmacie din Craiova. Cartea este organizată clasic, cu partea I-a acoperind structura si funcțiile principalilor compusi moleculari si macromoleculari care intră in compozitia țesuturilor din organismul uman. Un accent deosebit s-a pus pe patologia bolilor legate de defecte în structura și transportul compusilor moleculari și macromoleculari de importanța fiziologică. Partea a II-a tratează in detaliu metabolismul principalelor categorii de nutrienți din hrana organismului uman. Un accent deosebit s-a pus pe patologia bolilor legate de defecte in gene care codifică compusi din metabolismul intermediar. In final, s-a introdus un capitol de biochimie integrativă cu exemple din mentinerea relativ constantă a greutătii corporale ca parte a homeostaziei energetice, reglarea sistemică a presiunii arteriale și homeostazia apei. Biochimia integrativă va solicita studentilor o gîndire la nivel de organism, asa cum se cere in special in medicina internă și de laborator. Autorul speră ca această carte va fi utilă în pregatirea examenelor de biochimie dar și ca o platformă de aprofundare pentru cei care mai tîrziu vor fi medici de laborator de internesti.

CRAIOVA, 30 Septembrie, 2017.

Scanned with OKEN Scanner

Partea I-a

BIOCHIMIE STRUCTURALA

Patobiochimie

Scanned with OKEN Scanner

1. APA, ELECTROLITI, SISTEME TAMPON

Organismul uman este alcătuit, în medie, din 60% apă. Aceasta reprezintă solventul universal al compușilor ce se găsesc în organism și participă la transportul acestora precum și la termoreglare. Mulți compuși rezultați din procesele metabolice ale organismului conțin în structura lor grupări care pot ceda sau accepta ioni de hidrogen (protoni), comportându-se astfel ca acizi sau baze. Conținutul organismului în ioni de hidrogen și în apă, este strict controlat pentru a menține nivelul constant al acestor compuși, deci homeostazia („aceeași stare") organismului. Deviații semnificative de la homeostazia organismului pun în pericol viața.

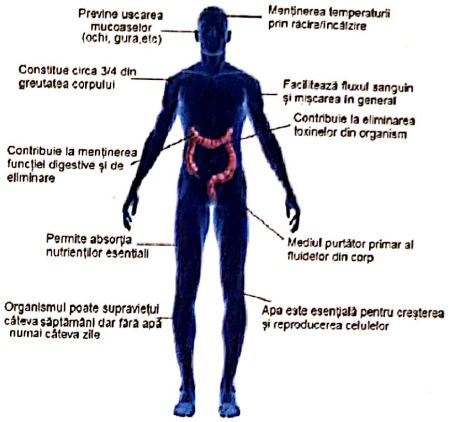


Figura I.1. *Rolurile biologice ale apei în organism sunt foarte diverse*

au și ele un procent mai mic comparativ cu tinerii.

Homeostazia

Un concept fundamental utilizat în fiziologie este cel de homeostazie a mediului intern, definită ca acțiunea de menținere constantă a parametrilor mediului intern. Toate organele și țesuturile organismului interacționează în scopul menținerii în limite constante a parametrilor mediului inter. Prin plamâni O_2 pătrunde în organism ajungând în compartimentul extracelular, de unde este preluat de celule și folosit pentru producerea de energie. Rinichii au rol în menținerea constantă a concentrației ionice, iar tractul gastrointestinal furnizează substanțe nutritive.

Apa este solventul vieții, îndeplinind în organism numeroase **roluri biologice**:

- intră în compoziția celulei și țesuturilor;
- este solventul și mediul de transport al unor substanțe și produși de excreție rezultați din prelucrarea metabolică a substanțelor nutritive în organism;
- este mediul care favorizează redistribuția moleculelor între diferite compartimente celulare;
- participă la majoritatea reacțiilor ce au loc în organism, fiind fie reactant fie produs de reacție;.
- proteinele, acizii nucleici, membranele celulare, sunt compuși a căror structura rezultă din interacțiunea lor cu apă.

Apa totală a organismului reprezintă aproximativ 50-60% din greutatea corpului adult, prezentând variații în funcție de sex și vârstă. La copii aceasta poate să reprezinte până la 75% din greutatea corporală, scăzând cu vârsta sau în obezitate, putând ajunge până la 45%, deoarece grăsimea are relativ puțină apă asociată (10%). Femeile au un procent de apă mai mic decât bărbații (50%), persoanele în vârstă

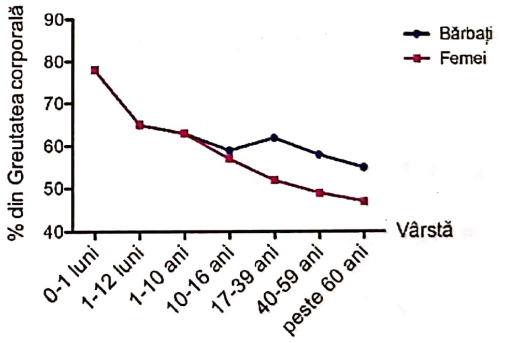


Figura I.2. *Procentul de apă raportat la greutatea corporală, la nou născuți, bărbati și femei adulte și dependența de vârstă*

Procentul de apă totală din organism depinde de cantitatea de țesut adipos, astfel că o persoană slabă are o cantitate mai mare de apă comparativ cu o persoană obeză. Conținutul în apă al organelor și țesuturilor este diferit. Astfel mușchiul conține aproximativ 75% apă.

Compartimentele apei în organism

Apa totală din organism poate fi împărțită în două mari compartimente:

Scanned with OKEN Scanner

✓Compartimentul intracelular (ICF): care conţine 60% din apă totală din organism

✓Compartimentul extracelular (ECF): 40% din apă totală a organismului:

- apa plasmatică
- apa interstiţială
- apa transcelulară: secreţia gastro-intestinală, urină, sudoarea, lichidele care străbat peretele capilar, acestea fiind responsabile de creşterea presiunii hidrostatice sau de inflamaţie

În cazul unui bărbat tânăr adult, două treimi din apatotală a organismului se găseşte în compartimentul intracelular (ICF) şi doar o treime în compartimentul extracelular (**Fig I.3**).

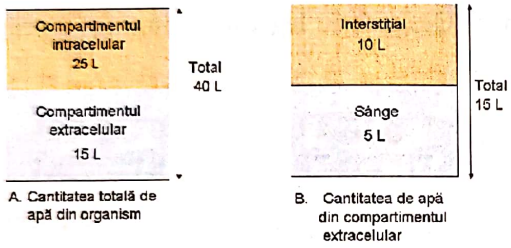


Figura I.3 *Distribuţia apei între compartimentul intra- şi extracelular care este format în principal din sânge şi lichidul interstiţial.*

Cele două compartimente ale organismului diferă între ele prin compoziţia în electroliţi. Membrana celulară având permeabilitate selectivă, compoziţia celor două spaţii (intra şi extra-celular) este diferită. Aceasta este impermeabilă pentru ionii de sodiu şi molecule mari dar este permeabilă pentru ionii de potasiu şi moleculele mici. Lichidul intracelular conţine predominant ioni de K^+, ioni de fosfat şi o cantitate foarte mare de proteine iar lichidul extracelular conţine predominant ioni de Na^+ şi Cl^-. Apa circulă liberă prin membrana celulară, mişcare care se datorează presiunii osmotice, până ce concentraţia ionilor de ambele părţi ale membranei este egală (menţinerea stării de steady state).

Osmolaritatea plasmei reprezintă numărul de particule solvite într-un kilogram de apă, şi este de primă importanţă în determinarea distribuţiei apei între cele două compartimente.

În calculul osmolarităţii plasmatice (Posm) se ţine cont de: molecule neutre din punct de vedere electric (glucoză, uree) şi de electroliţi, în special de concentraţia ionilor de sodiu:

$$Posm = 2(Na^+) + glucoză(mg/dl)/18 + uree(mg/dl)/2,8$$

Atunci când concentraţia plasmatică a sodiului este de 140mmol/l, glucoza sanguină este de 100mg/dl şi ureea sanguină este de 10mg/dl, rezultă o osmolaritate a plasmei de 289mOsm/KgH_2O.

Presiunea osmotică (π) este forţa care determină mişcarea apei între cele două compartimente separate printr-o membrana care permite schimbul de ioni şi macromolecule (**Fig. I.4**).

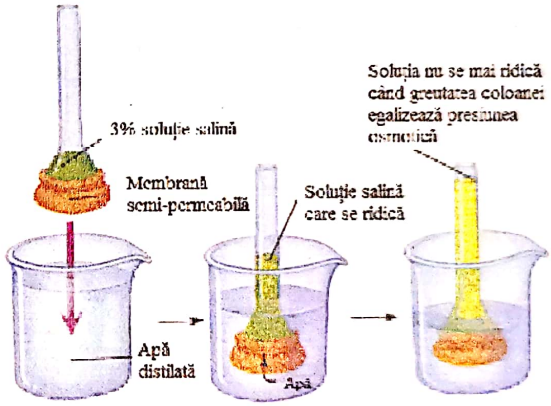


Figura I.4. *Presiunea osmotică este forţa care determină mişcarea apei în vederea egalizării forţei hidrostatice între 2 compartimente separate de o membrană semipermeabilă. Astfel, apa va difuza spre compartimentul cu concentraţia mai mare de sare.*

Apa ca solvent

Natura dipolară a moleculei de apă şi capacitatea acesteia de a forma legături de hidrogen stau la baza proprietăţii apei ca solvent universal (**Fig. I.5**). Substanţele ionice (sărurile minerale) sau substanţele polare (glucide, alcooli, etc) se numesc substanţe hidrofile şi se dizolvă cu uşurinţă în apă. Substanţele polare şi nepolare dar amfipatice se vor dispersa în apă formând agregate numite micelii de formă globulară în care moleculele amfipatice sunt orientate cu partea hidrofilă la exterior şi partea hidrofobă la interior, permiţând dispersia lor în mediul apos al organismului.

Scanned with OKEN Scanner

temperatură. Conductivitatea termică mare a apei facilitează disiparea căldurii rezultate în organe cu metabolism intens precum creierul, în sânge și pool-ul de apă al organismului. Ca urmare a încălzirii organismului apa este eliminată la suprafața tegumentelor unde se transformă în vapori, cu consum de energie, conferind senzația de rece. Evaporarea a 1L de apă prin piele și prin respirație determina pierderea a 580Kcal din căldura organismului (25%). În consecință, supraîncălzirea organismului este evitată datorită căldurii mari de vaporizare a apei, asigurând desfășurarea normală a proceselor în organism.

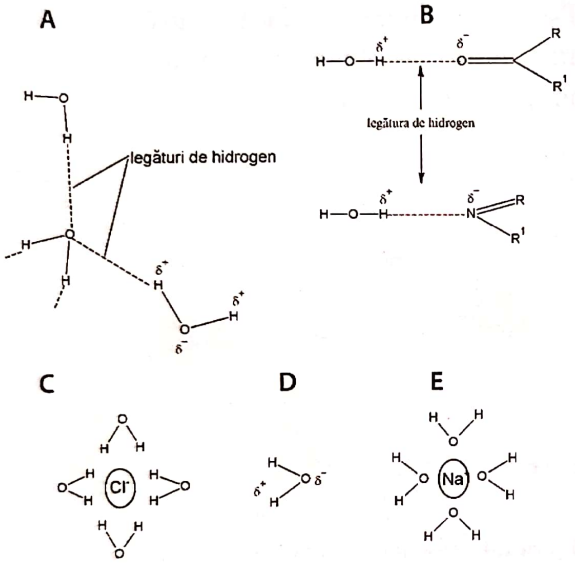


Figura I.5. *Natura dipolară a moleculei de apă și capacitatea acesteia de a forma legături de hidrogen(A) stau la baza proprietății de solvent universal față de substantele polare (B, C, D).*

Homeostazia lichidelor organismului

În ciuda variațiilor dintre aportul de apă prin ingestie (lichide, alimente, apa rezultata din reactiile metabolice) și cea excretată, organismul menține în limite constante nivelul apei din organism (Tabelul 1).

Variațiile zilnice ale volumului total al apei din organism sunt sub 1% din greutatea corporală, astfel încât fluidele organismului și osmolaritatea plasmatică sunt menținute constant.

Cantitate apă ingerată ≈ Cantitate apă excretată

Controlul homeostaziei apei în organism este realizat în principal prin două mecanisme, la nivelul sistemului nervos prin control hipotalamic și la nivel sistemic prin intermediul volumul sângelui arterial.

Controlul nervos central se realizează prin intermediul unor nuclee dintr-o formațiune circumventriculară la nivelul ventriculului 3, numită „organum vasculosum of the lamina terminalis" (OVLT) și o formațiune anatomică subfornicală (subfornical organ, SFO), care au legături anatomice cu hipotalamusul.

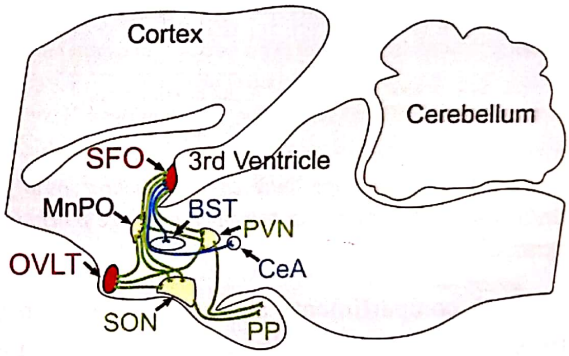


Figura I.6. *Relația anatomică dintre hipotalamusul și formațiunea circumventriculară care sesizează volumul sângelui arterial și osmolaritatea plasmei.*

Aceasta complex anatomic este responsabil de reglarea echilibrului electrolitic prin stimularea senzației de sete. Controlul excretiei de sodiu controlând prin aceste două mecanisme volumul sângelui și secreția de vasopresină. Mecanismul bazal de funcționare se bazează pe eliberarea reninei de către rinichi în urma scăderii volumului sângelui fără modificarea presiunii osmotice cum ar fi în caz de arsuri, accidente rutiere, diaree.

Tabelul 1. *Cantitatea de apă ingerată din lichide, alimente sau apă provenită din reacțiile metabolice este regasită în apa excretată sub formă de transpirație, expirație, urină și fecale.*

Cantitatea de apă ingerată			Cantitatea de apă excretată			
Lichide	Alimente	Metabolism	Transpirație	Expirație	Urină	Fecale
1500 mL	800 mL	400 mL	600 mL	400 mL	1500 mL	100 mL

Scanned with OKEN Scanner

Apa şi termoreglarea

Apa are capacitate termică mare: poate primi sau ceda căldura fără să îşi schimbe semnificativ propria

Renina eliberată creşte la rândul ei nivelul angiotensinei II din ser. Angiotensina II, determină contracţia vaselor şi creşterea tensiuniiarteriale şi stimulează nucleele din complexul circumventricular OVLT/SFO. Nucleii OVLT/SFO trimit terminaţii nervoase către nucleii hipotalamici "nucleus medianus" sau "medial preoptic nucleus" care în ultima instanţă controlează senzaţia de sete, comandând ingestia de apă şi refacerea volumului sângelui arterial închizând astfel bucla regulatoare de tip positiv ("positive feedback loop")(**Fig. I.7**).

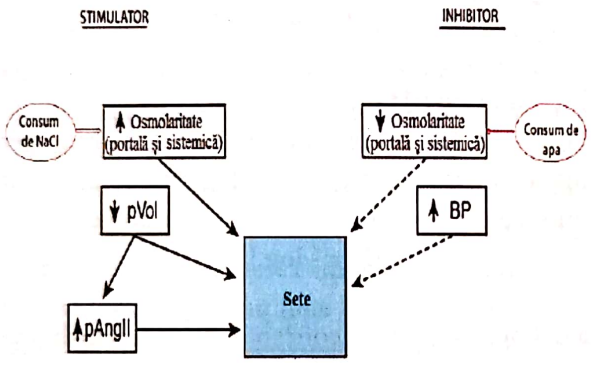


Figura I.7. *Reglarea echilibrului electrolitic prin stimularea sau inhibarea senzaţiei de sete la nivelul complexului circumventricular care are legătură anatomică directă cu hipotalamusul.*

În hipovolemie, scăderea cu peste 10% a volumului sanguin va determina scăderea fluxului sanguin renal care stimulează eliberarea de renina de către rinichi ce are drept consecinţă o creştere a producţiei de angiotensină II din ficat. Angiotensina II va stimula eliberarea de ADH din neurohipofiză care va determina o retenţie a apei la nivelulul rinichiului cu refacerea volemiei şi presiunii arteriale. Putem concluziona că reglarea senzaţiei de sete în organism stă la baza ajustării volumului arterial şi a osmolarităţii plasmei.

Astfel, distingem sete cauzată de hipovolemie şi sete cauzată de creşterea presiunii osmotice. Senzaţia de sete de tip hipovolemic este determinată de scăderea volumul sângelui arterial datorită unor arsuri sau diaree fără creşterea osmolarităţii plasmatice.

O diminuare a volumului de sânge sau creşterea osmolarităţii plasmatice prin aport de sare, duc la stimularea senzaţiei de sete, ce determină o ingestie crescută de apă şi creşterea nivelului seric al angiotensinei II. Senzaţia de sete este scăzută în condiţiile scăderii osmolarităţii plasmatice şi hipervolemiei (**Fig. I.7**).

Redistribuţia apei între compartimentele organismului

Distribuţia apei între compartimentul intracelular şi extracelular, se poate schimba în circumstanţe variate. Atunci când apa se pierde dintr-un compartiment, ea este înlocuită cu apă din alt compartiment pentru a menţine constantă osmolaritatea, astfel că există o permanentă redistribuite a apei între compartimentele organismului.

Sângele conţine un mare număr de proteine încărcate negativ care trebuie să fie echilibrate electrostatic de către electroliţi. Apa trece din sânge în urină pentru a echilibra excreţia de ioni, iar volumul sanguin este menţinut cu ajutorul apei din fluidul interstiţial. Atunci când osmolaritatea sângelui este crescută, apa iese din celulă pentru a reduce osmolaritatea sângelui. În mod normal, în cazul unui băr-bat de 70 de Kg, două treimi (28L) din apă totală (42L) a organismului se găseşte în compartimentul intracelular iar o treime în compartimentul extrace-lular. Osmolaritatea ambelor fluide este 280mOsm/KgH_2O. Compartimentul intracelular conţine 7980 mOsm iar cel extracelular 3990mOsm. Adică: (7980 + 3990)/42 = 285 mOsm/KgH_2O.

Dacă se introduc 2L de apă la nivelul compartimen-tului extracelular (perfuzie, ingestie) osmolaritatea

Scanned with OKEN Scanner

plasmatică scade iar apa intră în celulă în direcţia gradientului osmotic determinand scăderea osmola

rităţii intracelulare până ce se restabileşte echilibrul. Este uşor de concluzionat că două treimi din apa perfuzată intră în compartimentul intracelular.

În realitate, rinichiul elimina în mod normal excesul de apă administrată, minimizând astfel modificările descrise anterior. Dacă se perfuzează2L de soluţie salină izotonă cu plasmă (soluţie de NaCl 0,9%) nu va avea loc nici o schimbare în volumul celular. Toate soluţiile saline sunt reţinute în compartimentul extracelular şi nu există nici o schimbare a osmolarităţii.

Dacă, în schimb, se perfuzează 1L de soluţie salină 5% (NaCl 5%), celula este expusă unui mediu hiperton. Ca urmare apa iese din celulă şi echilibrul este restabilit la o osmolaritate mai mare decât cea normală iar volumul lichidului extracelular este mai mare datorită pierderii apei din compartimentul intracelular. În patologie, exemplul cel mai elocvent de redistribuire de electroliţi este cel determinat de glucoza serică. În hiperglicemie excesul de glucoză determină creşterea osmolarităţii plasmei şi deplasarea apei intracelulare în scopul diminuării osmolarităţii plasmei.

Fragilitatea hematiilor

Celulele sunt foarte sensibile la compoziţia ionică a mediului extracelular. Importanţa osmolarităţii pentru menţinerea integrităţii celulelor este elocvent ilustrată în cazul hematiilor. Volumul hematiilor nu se schimbă într-un mediu izoton de 0,9%. Dacă însă expunem hematiile unui mediu hipoton (de exemplu, 0,4% NaCl sau apă pură), apa va intra în hematii determinând umflarea şi spargerea acestora.

Expunerea hematiilor unui mediu hiperton (de exmplu 1,8% NaCl) va determina ieşirea apei intracelulare (deci din hematii). Ca urmare hematiile vor căpăta un aspect tipic „zbîrcit".

Acizi. Baze. Sisteme tampon

Acizii sunt substanţe capabile să cedeze ioni de hidrogen (H^+) într-o soluţie, iar bazele sunt substanţe capabile să accepte ioni de hidrogen. Apa este capabilă să disocieze formând ioni de H^+ şi ioni OH^-. Ionii de hidrogen sunt hidrataţi în cazul apei formând ioni hidroniu (H_3O^+) şi nu sunt niciodată reprezetaţi ca H^+.

Astfel apa este un compus neutru caracterizată de o constantă de disociere:

$$H_2O = H^+ + OH^-$$

$$KW = [H^+]\,[OH^-] = 10\text{-}14 \text{ mol}^2 / L^2$$

(produsul ionic al apei)

$$pH + pOH = 14$$

Pentru apă: $[H^+] = [OH^-] = 10^{-7}$ mol/L

$$pH = pOH = 7$$

Noţiunea de pH

pH-ul este dat de concentraţia ionilor de hidrogen dintr-o soluţie şi reprezintă logaritmul cu semn schimbat al concentraţiei ionilor de hidrogen:

$$\mathbf{pH = - \log [H^+]}$$

La pH neutru (pH=7) concentraţia ionilor de hidrogen este egală cu cea a ionului hidroxil ($[H^+] = [OH^-]$). Soluţiile acide se caracterizează printr-o concentraţie mai mare a ionilor de hidrogen comparativ cu apă pură (pH<7), iar soluţiile bazice au o concentraţie mai mare de ioni OH^- (pH>7). Ca rezultat al metabolismului, în organism se produc acizi ce cresc concentraţia ionilor de hidrogen şi tind să scadă pH-ul celular.

Aceşti acizi pot fi clasificaţi ca fiind acizi tari sau acizi slabi în funcţie de gradul de disociere în ioni de hidrogen şi bază (componenta anionică). Exemple de acizi tari complet disociaţi, sunt:

acid monobazic: $HCl \rightleftharpoons H^+ + Cl^-$

acid dibazic: $H_2SO_4 \rightleftharpoons 2H^+ + SO_4^{2-}$

Acizii slabi nu disociază complet. De exemplu, acidul acetic:

$$CH_3COOH \rightleftharpoons H^+ + CH_3COO^-$$

Ionii de hidrogen au o concentraţie foarte mică în plasmă care este practic neutră.

$pH_{plasma} = 7.40$; $H^+ = 0{,}000\,040$ mmol/L

(40 nmol/L)

Scanned with OKEN Scanner

Spre comparatie, ionii de sodiu și potasiu sunt prezenți într-o concentrație mult mai mare:

$[Na^+]$ = 142 mmol/L; $[K^+]$= 4.5 mmol/L

pH-ul unor lichide biologice:

Plasmă sanguină: pH = 7,40
Sucul gastric: pH = 1 – 2
Sucul pancreatic: pH = 8,4

Sisteme tampon

Protonii (H^+) au o influență extremă asupra sistemelor biologice, un exemplu îl constituie ionizarea grupărilor funcționale ale proteinelor. *Sistemele tampon* sunt sisteme care se opun schimbării pH-ului unei soluții la adăugarea unui acid sau a unei baze (le neutralizează). Ele sunt alcătuite din două componente, una care neutralizează acizii și alta care neutralizează bazele. În general aceste componente sunt reprezentate de un acid slab (componenta acidă) și baza să conjugată (componenta bazică). Din metabolism rezultă zilnic 22.000 mEq de acid/zi. Chiar și în aceste condiții pH-ul organismului este menținut în limite constante (în sânge între 7,36 – 7,44 și intracelular aprox. 7,1). Funcția ficatului, contracția miocardului, transmiterea impulsului nervos, sunt procese care pot fi menținute la un pH cuprins între 6,8 și 7,8. Din acest motiv până ce acizii produși în organism pot fi excretați ca CO_2 în aerul expirat și ca protoni în urină, ei sunt tamponați de către fluidele organismului cu ajutorul sistemelor tampon.

Principalele sisteme tampon ale organismului sunt:

- sistemul bicarbonat-acid carboniccare acționează în principal în lichidele extracelulare: $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO3^- + H^+$
- sistemul tampon fosfat – ce se găsește la nivelul tuturor celulelor: $H_2PO4^- \rightleftharpoons HPO4^{2-} + H^+$
- sistemul tampon al proteinelor – ce acționează la nivelul celulelor și plasmei. Cel mai important sistem tampon proteic este reprezentat de sistemul hemoglobinat acid/hemoglobinat bazic – ce acționează la nivelul eritrocitului (vezi mai jos).

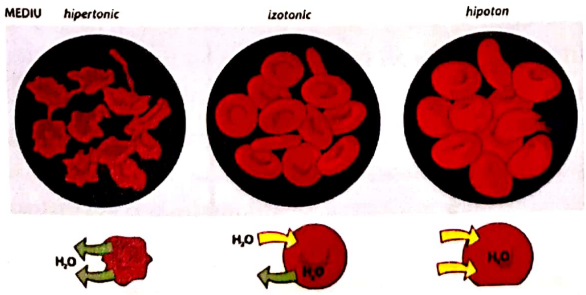


Figura I.9. *Importanța osmolarității pentru menținerea integrității celulelor este elocvent ilustrată în cazul hematiilor. Comportamentul unei hematii în mediu izoton, hipoton și hiperton.*

Aquaporinele

Pe lângă difuzia în sensul gradientului de concentrație termodinamic, apa poate fi transportată selectiv prin canale de apă formate din proteine hidrofobice inserate în membrana celulară (**Fig. I.14A**). Structura tri-dimensionala a unui canal de apa este ilustrată în (**Fig. I.14B**). Se cunosc 10 canale de apă care prezintă o specificitate ridicată de organ. Cea mai mare densitate de canale de apă prezintă eritrocitele (hematiile) și, deloc surprinzător, rinichiul. La descoperirea canalelor de apă o contribuție hotărâtoare avut și prof. Gheorghe Benga de la UMF Cluj în anii 1980.

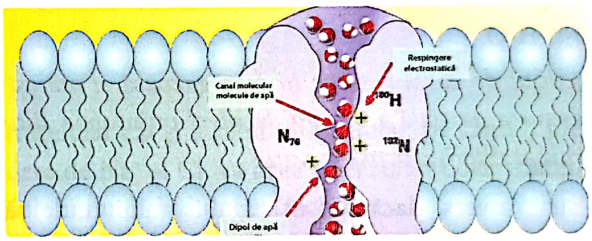


Figura I.10. *Structura moleculară a unui canalului transportor de apă*

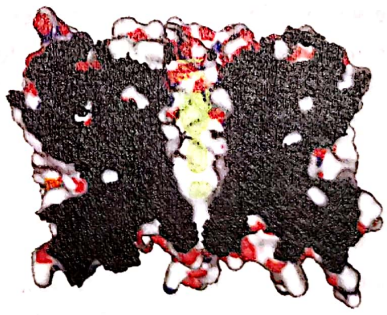


Figura I.11. *Structura tridimensională a unui canal transportor de apă*

Menținerea unui pH relativ constant la nivelul organismului are loc cu participarea rinichiului și a plămânului, este arătată în figura de mai jos.

Sistemul tampon bicarbonat

Sursa majoră de acidifiere a mediului intracelular este bioxidul de carbon (CO_2) rezultat din degradarea principiilor alimentare, în special din ciclul Krebs. Majoritatea bioxidului de carbon produs la

Scanned with OKEN Scanner

nivelul ciclului Krebs, difuzează în lichidul interstițial apoi în sânge și de aici în eritrocit. În condiții metabolice normale se formează în organism aprox. 13 moli de CO_2 zilnic. Acesta reacționează cu apă formând acidul carbo-nic, reacție catalizată de anhidraza carbonică. Acidul carbonic, fiind un acid slab, disociază în ioni de hidrogen (componenta acidă) și anionul bicarbonat (HCO_3^-, componenta bazică), formând astfel un sistem tampon important mai ales pentru plasmă. Capacitatea de tamponare a sângelui este dependentă de concentrația bicarbonatului și de presiunea parțială a CO_2 din alveolele pulmonare. Astfel, dacă pH-ul sanguin tinde să scadă (datorită unui exces de ioni de H^+), componenta bazică a sistemului (anionul bicarbonat) intervine și neutralizează ionii de hidrogen, formând acidul carbonic ce va disocia în CO_2și H_2O.

Bioxidul de carbon trece în faza gazoasă și mărește presiunea parțială a gazului la nivel pulmonar, fiind eliminat ulterior prin expirație .

În sens invers, dacă pH-ul organismului tinde să crească, bioxidul de carbon din rezerva gazoasă de la nivelul alveolelor pulmonare trece în faza apoasă la nivelul capilarelor pulmonare și formează acidul carbonic care va disocia în ioni de hidrogen ce vor neutraliza ionul hidroxil (OH^-) cu formare de apă și bicarbonat. Bioxidul de carbon dizolvat și cel gazos (de la nivelul alveolelor pulmonare) sunt în echilibru, nivelul lui poate fi ajustat prin respirație și prin expirație. Dacă nivelul bicarbonatului în organism crește iar nivelul ionilor de hidrogen scade apare starea de alcaloza (pH= > 7,45). Situația inversă caracterizează starea numită acidoză (**Fig. I.16**)

Cooperarea sistemelor tampon bicarbonat hemoglobina în eritrocit

Sistemul tampon bicarbonat și hemoglobina la nivelul eritrocitelor cooperează în tamponarea sângelui și transportul CO2 la plămân. Majoritatea bioxidului de carbon produs la nivelul ciclului Krebs, difuzează în lichidul interstițial apoi în sânge și de aici în eritrocit.

Eritrocitul conține o cantitate mare de anhidrază carbonică ce transformă CO_2 în acid carbonic, care va disocia în ioni de hidrogen care

sunt tamponați de către hemoglobina prin intermediul histidinei care are capacitatea să cedeze și să accepte protoni, și în bicarbonat, care este eliminat în sânge la schimb cu ionul de clor. Atunci când eritrocitul se apropie de plămân direcția echilibrului se schimbă. Bioxidul de carbon este eliberat din eritrocit cu formarea de acid carbonic ce se descompune apoi în bioxid de carbon și apă (Fig. I.17).

Mentinerea pH-ul intracelular

*p*H intracelular este menținut sub actiunea

tamponului fosfat și a proteinelor. Fosfatul anorganic (H_2PO4^-) poate disocia cu formarea de H^+ (componenta acidă) și HPO^{2-} componenta bazică). Din acest motiv anionul fosfat joacă un rol important ca sistem tampon universal actionând atât in mediul intra- cat si extracelular. Proteinele care se găsesc în cantitate mare în celule, conțin histidina ce poate accepta protoni similar hemoglobinei.

Rolul rinichiului în menținerea pH-ului

Acizii nevolatili rezultați din metabolism, nu pot fi excretați ca bioxid de carbon la nivel pulmonar ci sunt excretați prin urina (ioni amoniu, ioni fosfat, acid citric, acid uric etc). Acidul sulfuric este unul dintre acizii tari rezultați din metabolismul alimen-telor ce conțin sulf sau din degradarea aminoacizilor cu sulf.

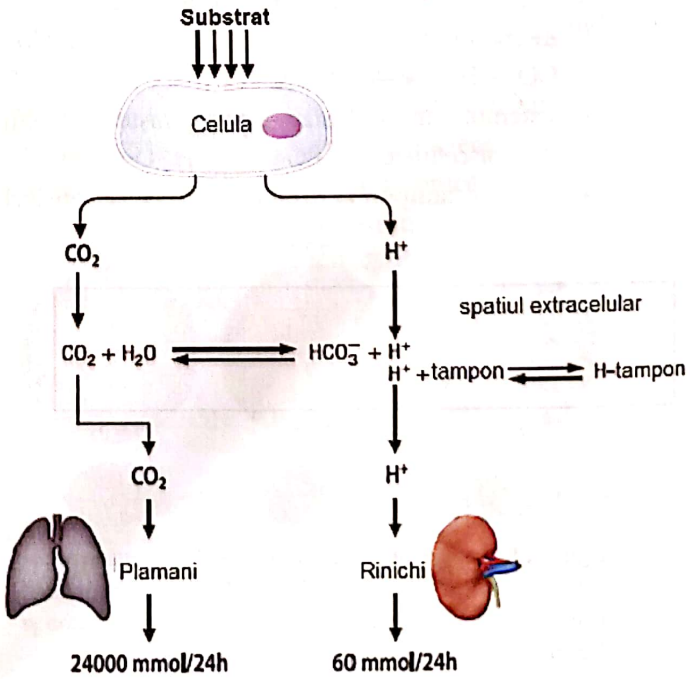


Fig. I.16. Sistemul tampon bicarbonat in organism.

Scanned with OKEN Scanner

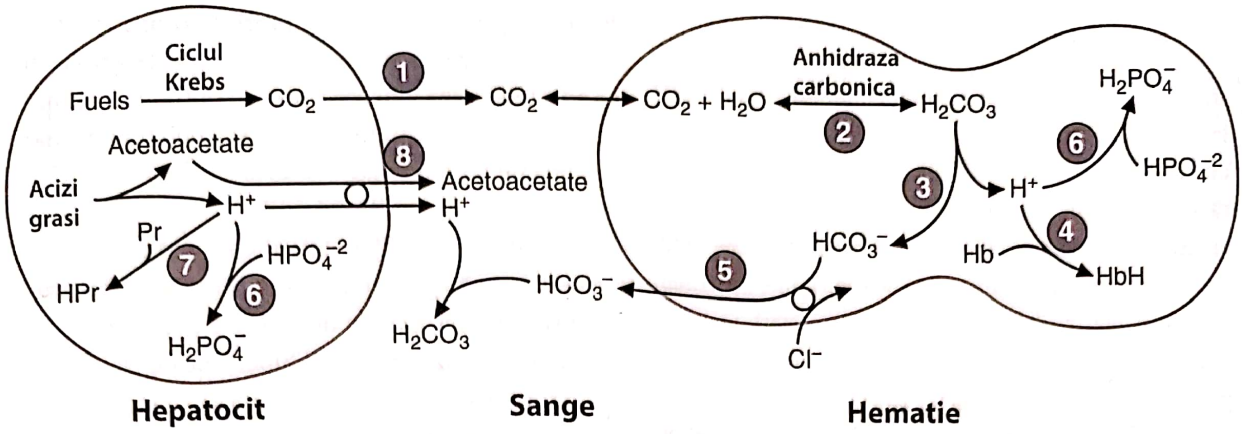


Figura I.17. Cooperarea între plămân (hepatocit) și hematiile din sânge în tamponarea sângelui și transportul CO_2 la plămân cu participarea tuturor sistemelor tampon. Sistemul tampon bicarbonat și hemoglobina la nive-lul eritrocitelor cooperează în tamponarea sângelui și transportul CO_2 la plămân (adaptat după Mark 2012)

cu participarea glutaminei care este principala forma de transport a amoniacului in sange.

Patobiochimia homeostaziei apei

Necesarul zilnic de apă

Știind că pierderea totală în cazul unei persoane sănătoase este de 1,5L și că 400ml de apă provin din metabolism, necesarul zilnic de apă este de 1500 – 400 = 1100 ml de apă. Pierderile de apă au loc în mod obișnuit la nivelul rinichiului, tractului gastro-intestinal, plămânilor și pielii. Acest aport trebuie suplimentat în cazul unei clime calde, transpirațiilor abundente, efortului fizic, diareei, vărsăturilor, febrei. În unele boli renale necesarul de apă este apreciat la 3000ml/zi. Aportul de apă trebuie respectat cu strictețe, *variații ale echilibrului hidric de numai 1-2%, conduce la boli grave și în final la moarte.* Excesul de apă apare ori de câte ori aportul depășește capacitatea de excreție renală, apa acumulându-se în organism. Această situație nu apare în mod normal datorită mecanismelor de reglare și control ale organismului.

Deficitul de apă – deshidratarea – este un termen ce nu deosebește cu exactitate pierderea de apă de cea de sodiu. O pierdere simplă de apă are drept consecință scăderea proporțională a lichidului ex tracelular cât și a celui intracelular, pe când o pierdere de Na^+ și Cl^- va avea ca rezultat doar scăderea volumului lichidului extracelular.

Deficitul de apă(l) = 0,6 x G x Na plasmatic / (140 – 1)

Scăderea volumului plasmatic se manifestă clinic prin: creșterea frecvenței cardiace, scăderea tensiunii arteriale, aplatizarea jugularelor.

Scăderea volumului interstițial se manifesta prin: scăderea elasticității tegumentelor, globi oculari hipotoni, tegumente uscate, deprimarea fontanelelor la copii.

Deficitul de apă poate fi de mai multe feluri.

- **Deshidratare izoosmotică** ce are drept etiologie: *hemoragii, arsuri cu pierdere de plasmă, pierderi de lichide digestive (diaree, vărsături).*

În acesta situație pierderile inițiale de plasmă sunt compensate cu lichid interstițial, din acest motiv nu apar modificări majore ale osmolarității lichidelor extracelulare, deci nu va avea loc o redistribuire a apei între cele două compartimente ci doar o scădere a lichidului extracelular.

- **Deshidratarea hiperosmotică** sau deficitul total de apă, se caracterizează prin concentrația Na+ peste 145mEg/l. Are ca etiologie: *aportul redus de apă, diabetul zaharat, diabetul insipid,*

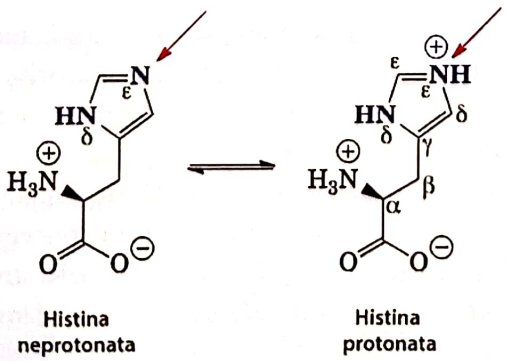
Scanned with OKEN Scanner

- *alcoolism* etc.

Cum se explică aceste procese? Rata respiraţiei este controlată şi de creşterea concentraţiei ionilor de hidrogen la nivelul sângelui şi lichidelor interstiţiale ce comunică cu centrul respirator de la nivelul hipotalamusului. Ca răspuns la scăderea pH-ului, rata respiraţiei creşte determinând o scădere a $Pa_{CO2.}$ Bicarbonatul se combină cu ionii de hidrogen şi formează acid carbonic şi în final rezulta si mai mult CO_2. Concentraţia bicarbonatului scade, pH-ul arterial scade la 7,08 iar mecanismul compensator (respiraţia Kussmaul) nu poate compensa rata crescută de formare a corpilor cetonici, apărând astfel starea numită cetoacidoză.

Pierderile pure de apă fără să fie însoţite de pierdere de electroliţi sunt rare (lipsa de ADH sau rezistenta crescută la acţiunea ADH, vârstnici etc). Iniţial, pierderea apei plasmatice duce la o creştere a osmolarităţii plasmei cu deplasarea lichidelor din spaţiul interstiţial în plasmă, ceea ce are drept consecinţă o creştere a osmolarităţii interstiţiale cu deplasarea apei din compartimentul intracelular spre cel extracelular.

- **Intoxicaţia iatrogenă cu apă** apare în cazul absorbţiei unor cantităţi mari de soluţii
- neelectrolitice. Se instalează acut, manifestările clinice fiind reprezentate de: convulsii
- generalizate de tip grand mal, tulburări de vedere, hipotensiune, bradicardie, creşterea presiunii venoase centrale (PVC), agitaţie, edem pul-monar. Toate aceste manifestări fiind însoţite de scăderea osmolarităţii plasmatice. Tratamentul consta în administrarea de ser fiziologic furose-mid şi cardiotonice concomitent cu monitori-zarea valorilor sodiului plasmatic.



Rezultatul este o comprimare a compartimentelor intra şi extra-celular ce prezintă o osmolaritate crescută. În vederea corectării acestui dezechilibru se administrează glucoză 5% sub controlul tensiunii arteriale, a concentratiei de Na^+ şi a debitului urinar (o corecţie rapidă poate conduce la edem cerebral).

- **Deshidratarea hipoosmolară** apare în *insuficienţă corticosuprarenaliană* (boala Addison), prin pierderi renale de NaCl. Tratamentul consta în perfuzii cu soluţii hipertone de NaCl.
- **Excesul total de apă – hiperhidratarea hipoosmolară** apare în *ingestia unor cantităţi mari de apă sau în situaţia unui exces de ADH* ce se caracterizează prin retenţia renală de apă.

Iniţial are loc o scădere a osmolarităţii plasmatice, apa se va deplasa din plasmă către interstiţiu. În final, datorită scăderii osmolarităţii interstiţiale, apa va pătrunde în spaţiul intracelular, consecinţa fiind hipoosmolaritatea atât a compartimentului intracelular cât şi a celui extracelular.
Semnele şi simptomele excesului total de apă depind de concentraţia sodiului plasmatic:

- Na sub 120 mEq/l – confuzie, ameţeli
- Na sub 110 mEq/l – confuzie, comă;
- Na sub 100 mEq/l – aritmii cardiace.

Terapia constă în tratament concomitent cu manitol şi solutie de NaCl hipertonă.

Exemplu clinic: un pacient cu diabet zaharat prezintă o diureză osmotică datorită concentraţiei crescute a glucozei sanguine şi a corpilor cetonici. Aceştia trec din sânge în filtratul glomerular şi apoi în urină. Consecinţa diurezei osmotice este o hiperosmolaritate a filtratului glomerular ce atrage după sine o eliminare crescută de apă prin urina (poliurie). Prin urmare, apa trece din spaţiul intracelular în plasmă ducând la deshidratarea celulelor (în special la nivelul creierului), acestea fiind incapabile să îşi exercite funcţia şi pacientul este în comă.

Figura 1.12. *Sisteme tampon ale organismului. CO2 este produs de metabolism si convertit in ion de bicarbonat si un proton, in hematii. In hematii, protonii sunt fixati de hemoglobin (Hb) si phosphate (HPO4). Bicarbonatul este transportat in sange si neutralizeaza protonii generati prin alte reactii metabolice. Protonii mai pot fi fixati de alte proteine (Pr) care servesc de asemenea ca tampon intracelular (modificat dupa Mark, 2014).*

Scanned with OKEN Scanner

Aspecte clinice ale echilibrului acido-bazic

Excesul de baze standard este unul dintre markeri prognostici utilizați pe scară largă pentru evaluarea pacienților cu traumatisme în cadrul serviciilor de terapie intensivă. Așadar, excesul de baze standard continuă să fie printre markerii cei mai frecvent utilizați în unitățile critice de îngrijire, atât pentru a diagnostica acidoza metabolică cât și pentru a orienta terapia specifică, chiar și manevrele de resuscitare. În tratamentul traumatismelor, valorile excesului de baze pot fi obținute rapid, beneficiind de multiple studii ce au demonstrat o valoare clinică superioară pH-ului în ceea ce privește evoluția semnelor vitale sau marcarea punctului final al manevrelor de resuscitare.

Baza tampon reprezintă suma anionilor acizilor slabi (tampon) din plasmă, încadrându-se hemoglobina, proteinele plasmatice, fosfatul și bicarbonatul. Excesul de baze din sânge este considerat o evaluare independentă de componenta respiratorie, precum și o măsurătoare care ar putea înlocui valoarea bicarbonatul din plasmă. Excesul de baze este cantitatea de acid tare (în milimoli pe litru) care trebuie adăugată in vitro la 1 litru de sânge integral oxigenat pentru a readuce proba la condițiile standard (pH 7,40, pCO_2 de 40 mmHg și 30g până la 50g hemoglobină/litru în lichidul extracelular la o temperatură de 37 °C). Termenii "deficit de baze" și "exces de baze" sunt adesea utilizați, dar este necesar să se înțeleagă că la un pacient cu acidoză metabolică, un deficit de bază de 6 mmoli/L este egal cu un exces de bază standard de -6 mmol/L.

Scanned with OKEN Scanner

2A. AMINOACIZI

De ce trebuie sa cunoaştem structurile şi funcţiile aminoacizilor?

Este important ca atunci când studiem biochimia să cunoaştem bine structura şi funcţiile compuşilor care intră în structura biomoleculelor. Fără astfel de cunoştiinţe nu ne putem explica logic mecanismele ce stau la baza apariţiei bolilor şi nici modalitatea de acţiune a agentilor terapeutici meniţi să restabilească echilibrul biologic în organismul uman.

Aminoacizii sunt unităţile structurale fundamentale ale proteinelor. Proteinele sunt compuşi care îndeplinesc în organism funcţii extrem de variate. Denumirea de proteine derivă din cuvintul grecesc "proteos" care înseamnă, "primul" sau "cel mai important".
Peptidele şi proteinele sunt polimeri ai α-aminoacizilor, caracteristică unică a fiecarei proteine fiind determinată de secvenţa liniară a aminoacizilor constituenţi, numită structura primară. În afara aminoacizilor care intră în alcătuirea proteinelor (aminoacizi proteinogeni) există în organism alţi aminoacizi care nu intră în structura proteinelor dar care îndeplinesc alte funcţii (aminoacizi neproteinogeni).

Proprietăţile generale ale aminoacizilor

Fiecare aminoacid, care intră în structura proteinelor (excepţie face prolina), prezintă aceeaşi formulă generală, fiind alcătuiţi dintr-o grupare *carboxil (-COOH)*, o grupare funcţională *amino ($-NH_2$)*, şi un *radical R*, ataşate *atomului de carbon α*. Radicalul R este diferit de la un aminoacid la altul (Fig. 1.1.)

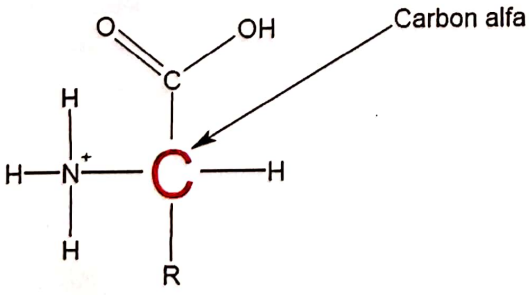


Figura 1.1. *Structura generală a aminoacizilor.*

Proprietatile acido-bazice ale aminoacizilor

Gruparea carboxil (-COOH) şi amino ($-NH_2$) sunt capabile de **ionizare**, adică pot ceda sau accepta protoni în funcţie de pH, comportându-se ca acizi sau ca baze. La pH fiziologic (aprox. 7,4) gruparea carboxil este încărcată negativ iar gruparea amino este încărcată pozitiv, astfel încât întreaga molecula este neutră. La pH acid gruparea carboxil primeşte protoni, astfel că sarcina întregii molecule devine pozitivă în timp ce la pH alcalin gruparea amino cedează protoni întreaga moleculă devenind încărcată negativ. De aceea aminoacizii sunt consideraţi molecule *amfotere*, adică se comportă în mediul acid ca baze şi în mediul bazic ca acizi (Fig. 1.2).

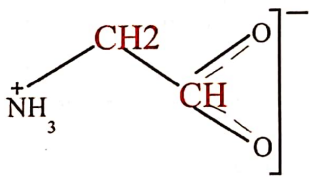


Figura 1.2 *Structura glicinei*

Atunci când încărcătura netă a aminoacizilor sau proteinelor este zero, pH-ul va fi echivalent cu *punctul izoelectric*, pI.

Proprietăţile optice ale aminoacizilor

Atomul de carbon care conţine patru substituenţi diferiţi, se numeşte atom de carbon asimetric (centru de chiralitate). Moleculele care prezintă astfel de centru în structura lor sunt optic active, adică pot roti planul luminii polarizate către stânga (levogir) sau către dreapta (dextrogir). Astfel aminoacizii (excepţie făcând glicina) prezintă două tipuri de izomeri: D (*dextrogir*) sau L (*levogir*).Aceşti izomeri optic activi, care se prezintă ca obiectul şi imaginea lui în oglindă, se numesc enantiomeri.

Enantiomerii pot fi reprezentaţi spaţial în mai multe moduri, cel mai frecvent fiind sistemul D şi L prin convenţie cu gliceraldehida (cel mai simplu zahar cu

Scanned with OKEN Scanner

izomerie optică), convenție propusă de Emil Fischer în 1891 (Fig. 1.3).

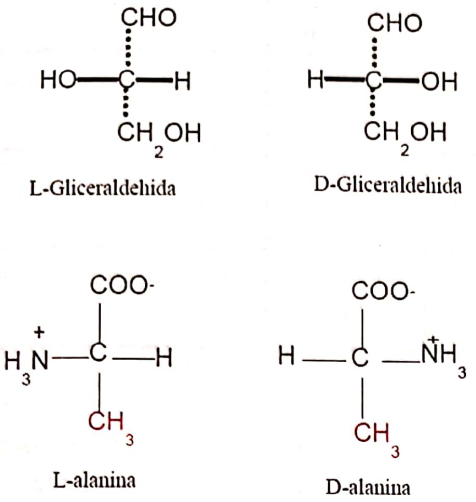


Figura 1.3 *Structura enantiomerilor alaninei prin analogie cu structura glicerinaldehidei.*

În alcătuirea proteinelor intră numai L-α-aminoacizi. D-aminoacizii se găsesc în special în compoziția antibioticelor cu structură polipeptidică.

În alcătuirea proteinelor intră 20 de aminoacizi aranjați într-o secvență lineară determinată de codul genetic. Acești 20 de α-aminoacizi pot fi clasificați **în funcție de structura radicalului R**. Abrevierea aminoacizilor se poate face prin 3 litere sau o singură literă. Abrevierea prin trei litere constă din primele 2 litere ale numele aminoacidului plus a 3-a literă sau litera cu sonoritatea cea mai mare, de exemplu, triptofan – Trp. Abrevierea cu o singură literă este folosită pentru a reda ordinea aminoacizilor într-o secvență peptidică și este de obicei reprezentată de prima literă din denumirea aminoacidului sau de litera cu sonoritatea cea mai mare (alanina-A; arginina-R). Reprezentarea codificată a aminoacizilor a fost stabilită de către Margarett Davhoff, specialist în aplicații matematice și analiza computerizată în domeniul biochimiei.

Margarett Davhoff

Clasificarea aminoacizilor în funcție de natura radicalului R

În funcție de polaritatea catenei laterale (a radicalului R), aminoacizii pot avea caracter hidrofil sau hidrofob adică pot forma sau nu, legături de hidrogen cu apa. Această proprietate este extrem de importantă pentru stabilitatea structurală a proteinelor și a interacțiunii dintre acestea.

Aminoacizi cu radical R alifatic

Aminoacizii cu radical alifatic ramificat (valina, leucina și izoleucina), au electronii împărtiți egal între atomii de carbon și hidrogen din structura lanțului, din acest motiv nu pot forma legături de hidrogen cu apa (au caracter hidrofob). În structura proteinelor acesti radicali vor forma un miez hidrofob (intern)(Tabelul 1.1).

Tabelul 1.1 *Aminoacizii cu radical alifatic. Gruparea comună este evidențiată în roșu.*

Glicina	Gly – G	Alifatic	Nepolar	H-CH(NH2)-COOH
Alanina	Ala – A	Alifatic	Nepolar	CH3-CH(NH2)-COOH
Valina *esential	Val – V	Alifatic	Nepolar	(H3C)2CH-CH(NH2)-COOH
Leucina *esential	Leu – L	Alifatic	Nepolar	(H3C)2CH-CH2-CH(NH2)-COOH
Izoleucina *esential	Ile – I	Alifatic	Nepolar	H3C-H2C-CH(CH3)-CH(NH2)-COOH

Aminoacizi cu radical alifatic ce conțin grupare hidroxil

Pot forma legături de hidrogen cu apa, cu alte molecule polare sau între ei în structura proteinelor (Fig. 1.5A). Datorită acestei proprietăți (hidrofilie) ei se găsesc predominant la nivelul suprafeței proteinelor globulare solubile în apă. Ei se mai numesc și polari neutri (Tabelul 1.2).

Tabelul 1.2 *Aminoacizi cu radical alifatic ce conțin grupare hidroxil.*

Serine	Ser – S	Non aromatic hidroxil	Polar neutru	HO-CH2-CH(NH2)-COOH
Threonine *esential	Thr – T	Non aromatic hidroxil	Polar neutru	H3C-CH(OH)-CH(NH2)-COOH

Scanned with OKEN Scanner

Aminoacizi care conțin sulf

Catena laterală a cisteinei conține grupara sulfhidril (-SH) ceea ce îi permite formarea unei legături disulfhidrice cu o altă moleculă de cisteină, rezultând cistina (Fig. 1.4). Formarea acestei legături, între două molecule de cisteina apropiate în lantul peptidic, menține apropiate cele două regiuni, stabilizând astfel conformația proteinelor.

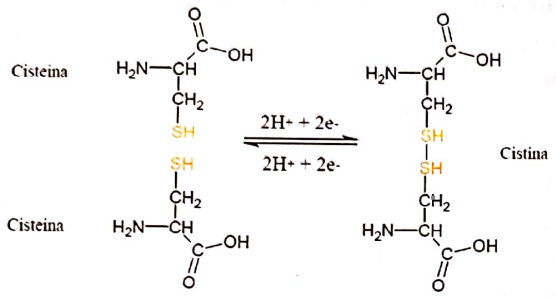


Figura 1.4 *Oxidarea cisteinei la cistina.*

Metionina, nu conține gruparea SH și din acest motiv nu poate forma legături disulfhidrice, ea fiind un aminoacid nepolar, hidrofob. Metionina joacă un rol important în procesele metabolice ale organismului datorită capacității ei de a ceda altor compuși gruparea metil (-CH_3) atașată atomului de sulf (Tabelul 1.3). Poate forma S-Adenozil-Metionina (SAM) ce servește ca donor de grupări metil în diferite procese metabolice.

Tabelul 1.3 *Aminoacizi care conțin sulf.*

Cysteina	Cys – C	Polar neutru	HS–CH_2–CH(–NH_2)–COOH
Methionina *esential	Met – M	Nepolar hidrofob	H_3C–S–$(CH_2)_2$–CH(–NH_2)–COOH

Aminoacizi cu caracter acid și amidele lor

Acidul aspartic și glutamatul (acidul glutamic) prezintă în structura lor două grupări carboxil, ceea ce le conferă o încărcătură negativă (caracter acid) la pH fiziologic. Asparagina și glutamina sunt amidele acidului aspartic respectiv a acidului glutamic care, datorită prezenței grupării amidice în moleculă, sunt molecule cu caracter polar dar neutre la pH fiziologic (Tabelul 1.4).

Tabelul 2.4. *Aminoacizi cu caracter acid și amidele lor.*

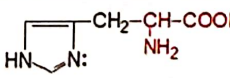
Aspartic Acid	Asp – D	Polar negativ	HOOC–CH_2–CH(–NH_2)–COOH
Asparagina	Asn – N	Polar neutru	H_2N–C(=O)–CH_2–CH(–NH_2)–COOH
Acid Glutamic	Glu – E	Polar negativ	HOOC–CH_2–CH_2–CH(–NH_2)–COOH
Glutamina	Gln – Q	Polar neutru	H_2N–C(=O)–CH_2–CH_2–CH(–NH_2)–COOH

Acizii aspartic și glutamic se găsesc îndeosebi la nivelul centrului activ al enzimelor unde joacă un rol extrem de important. Asparagina poate fi ușor hidrolizată la acid aspartic. Ea reprezintă locul de atașare a resturilor glucidice din structura glicoproteinelor. Acidul glutamic poate fi interconvertit în acid α-cetoglutaric (intermediar al ciclului Krebs) angajându-se astfel în metabolismul energetic al organismului, alături de oxaloacetat, sau poate fi transformat enzimatic în glutamină care joacă un rol important în metabolismul compusilor azotati. Acidul glutamic poate fi convertit cu ușurința la prolină.

Aminoacizi cu caracter bazic (încărcați pozitiv)

Histidina, arginina și lizina au în catena laterală unul sau mai mulți atomi de azot care pot accepta protoni (caracter bazic) și pot fi încărcați astfel pozitiv la pH fiziologic sau acid. Încărcătura pozitivă a aminoacizilor bazici le conferă acestora capacitatea de a forma legături ionice (electrostatice) cu grupările încărcate negativ (aminoacizi cu caracter acid, grupările fosfat ale coenzimelor) (Tabelul 1.5).

Tabelul 1.5. *Aminoacizi cu caracter bazic (încărcați pozitiv.*

Arginina *esential	Arg – R	HN–CH_2–CH_2–CH_2–CH(–NH_2)–COOH; C(=NH)–NH_2
Lysina *esential	Lys – K	H_2N–$(CH_2)_4$–CH(–NH_2)–COOH
Histidina *esential	His – H	

Scanned with OKEN Scanner

Arginina este un aminoacid esenţial ce conţine în structura sa gruparea guanidino (care-i conferă încărcătură pozitivă). Această structură permite legarea grupărilor fosfat şi din acest motiv este frecvent întâlnită la nivelul situsurilor active ale proteinelor ce leagă substrate fosforilate. Arginina este un intermediar important al ciclului ureogenetic din organism, fiind hidrolizată enzimatic la uree şi ornitină (aminoacid neproteinogen). Histidina, prin caracterul sau polar încărcat pozitiv, poate forma legături ce contribuie la stabilizarea structurii pliate a proteinelor.

Aminoacizi cu radical aromatic

Nucleul aromatic este un inel alcătuit din 6 atomi de carbon şi trei duble legături. Aminoacizii care conţin ca radical un nucleu aromatic au caracteristici diferite în funcţie de natura substituenţilor de la nucleu. De exemplu: fenilalanina care nu prezintă substituenţi în ciclul aromatic (electronii sunt egal distribuiţi) are caracter hidrofob şi permite angajarea în legături hidrofobe (Fig. 1.5B).

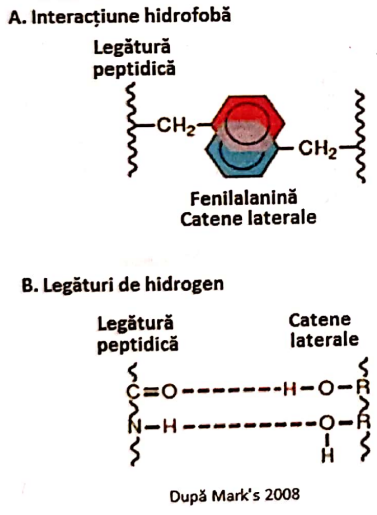


Figura 1.5. *Angajarea aminoacizilor în legături de tip hidrofob (A) sau de hidrogen (B) adaptată după Marks, 2012*

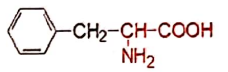
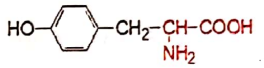
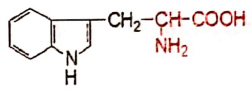
Tirozina prezintă o grupare hidroxil (OH) la nivelul ciclului aromatic, ceea ce îi conferă posibilitatea angajării în legături de hidrogen, având astfel caracter hidrofil.

Triptofanul poate forma legături de hidrogen prin intermediul atomului de azot din nucleul indolic, având astfel caracter polar (Fig. I-6a).

Grupul aminoacizilor cu nucleu aromatic (Tabelul 1.6) cuprinde:

- Fenilalanina – un aminoacid esenţial derivat de la alanină cu un substituent fenil la atomul de carbon β.
- Tirozina - un aminoacid esenţial derivat de la fenilalanină prin hidroxilare în poziţia para a nucleului aromatic.
- Triptofanul este un aminoacid esenţial derivat de la alanină cu un substituent indol la atomul de carbon

Tabelul 1.6. *Aminoacizi cu nucleu aromatic.*

Phenylalanina *esential	Phe – F	Nepolar	
Tyrosina *esential	Tyr – Y	Polar	
Tryptofan *esential	Trp – W	Nepolar	

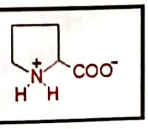
Aminoacizi neconvenţionali

Majoritatea acestor aminoacizi sunt obţinuti prin modificarea enzimatică a aminoacizilor convenţionali, după încorporarea lor în structura proteinelor (*modificări posttranslaţionale*). Dintre aceştia, 4-hidroxi-prolina şi 5-hidroxilizina (Fig. 1.6b) se găsesc în structura colagenului şi a proteinelor fibrilare din compoziţia ţesuturilor conective. Prezenţa grupării hidroxil face ca hidroxiprolina să poata forma legături de hidrogen între lanţurile peptidice al proteinelor fibrilare permitând asocierea şi împletirea lanţurilor în forma helicoidală, fibrele de colagen căpătând astfel o mai mare rezistenţă mecanică.

Iminoacizi

Prolina este un iminoacid deoarece conţine în structura sa o grupare imino (singurul dintre cei 20 de aminoacizi)(Tabelul 1.7). Aceşti aminoacizi se găsesc frecvent la nivelul buclelor (loop) din structura proteinelor. Deoarece nu pot forma legături de hidrogen, nu există la nivelul α-helixului.

Tabelul 1.7. *Structura prolinei*

Prolina	Pro – P	Nepolar	

Scanned with OKEN Scanner

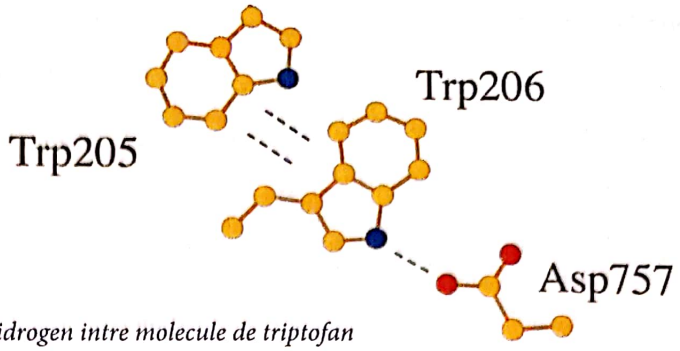


Figura 1.6a. Legaturi de hidrogen intre molecule de triptofan

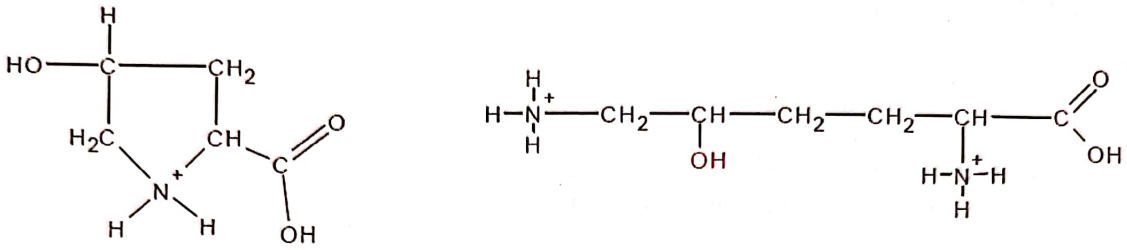


Figura 1.6b. *Modificarea aminoacizilor prin hidroxilare în structura colagenului matur.*

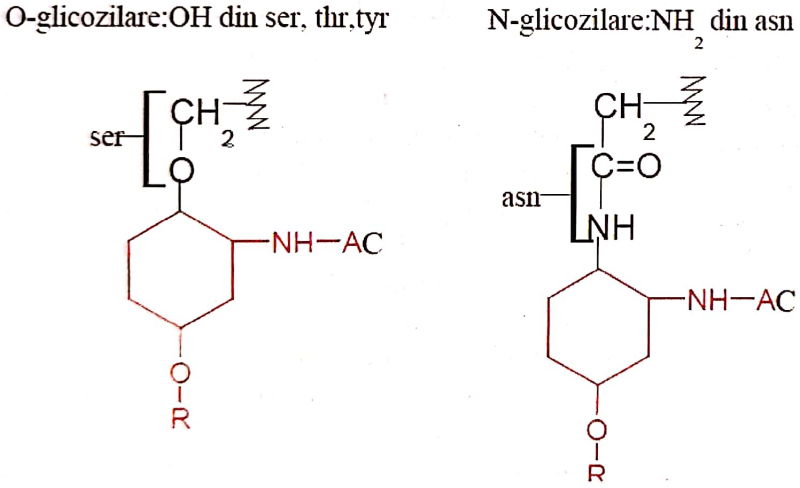


Fig. 1.7. *Modificarea aminoacizilor prin glicozilare*

Glicozilarea, procesul de adiţie a unui rest oligozaharidic în structura proteinelor se realizează prin formarea de legături O-glicozidice la care participă gruparea hidroxil (-OH) a serinei, treoninei sau tirozinei, precum şi prin legături N-glicozidice la care participă gruparea amino ($-NH_2$) din structura asparaginei (Fig. 1.7).

Adiţia de lipide, are loc la nivelul grupării SH din structura cisteinei. Ca exemple menţionăm palmitoilare-adiţia acidului (palmitic), la grupările amino din structura glicinei şi Miristoilare – adiţia grupării miristoil)(Fig. 1.8)

Alte modificări, ale aminoacizilor din structura unei proteine, au rolul de a modifica activitatea acesteia. Aceste modificări pot fi: acetilarea (la nivelul grupării amino terminale), fosforilarea (la nivelul grupării hidroxil)(Fig. 1.9) sau ADP-ribozilarea (la nivelul atomului de azot sau sulf)(Fig. 1.10).

Selenocisteina este un alt aminoacid neconvenţional (nu este specificat prin codul genetic) care se obţine prin adiţia seleniului la cisteină înaintea încorporării în structura proteică. Este necesară activităţii unor enzime (Fig. 1.11).

Scanned with OKEN Scanner

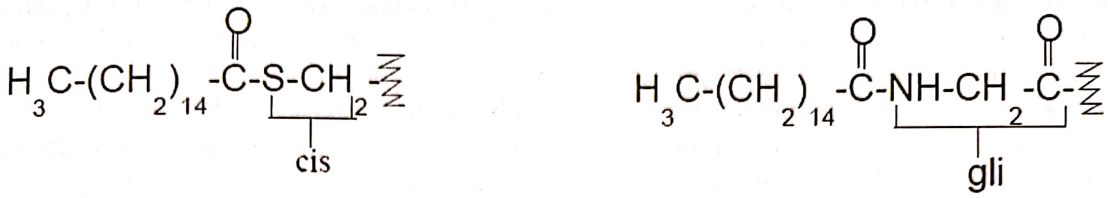


Figura 1.8 *Adiția de lipide cum ar fi grupul miritol sau palmitoil, poate avea loc la nivelul grupării SH din structura cisteinei.*

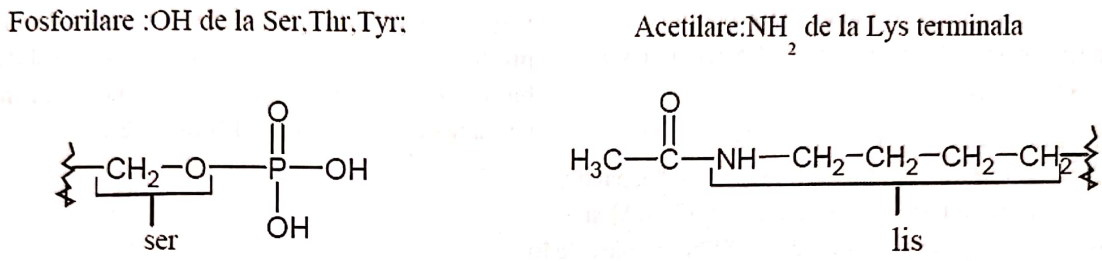


Figura 1.9. *Modificări la nivelul grupelor aminoterminale ale lizinei prin fosforilare (imagine stânga) sau acetilare (imagine*

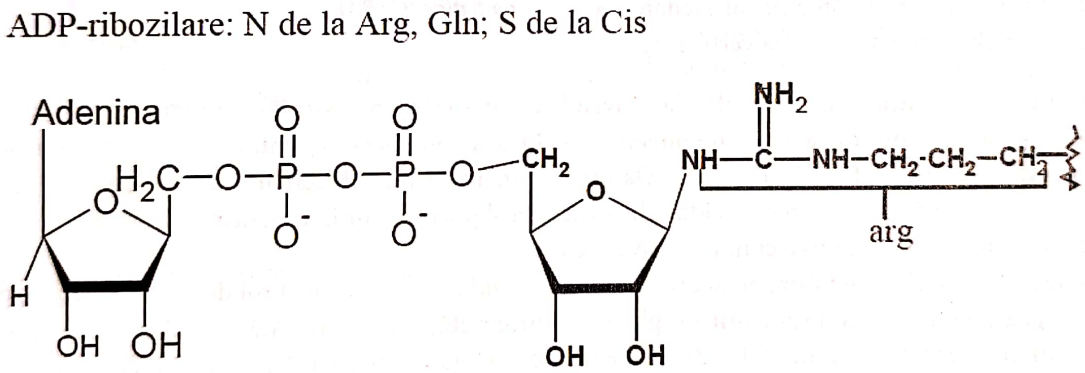


Figura 1.10 *Modificări la nivelul grupelor aminoterminale ale argininei, glicinei şi cisteinei prin ADP-ribozilare.*

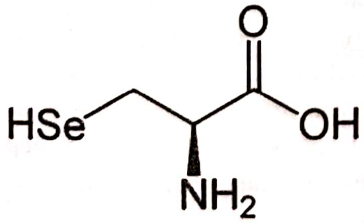


Figura 1.11 *Formula de structură a seleno-cisteinei, un amino-acid neconvențional care conține seleniu.*

Observatie:
Este important să cunoaștem caracterul fiecarui aminoacid deoarece în funcție de natura radicalului aminoacizii care intră în structura unei proteine dictează funcția acesteia. Orice modificare (substituție) neconservativă (ex. înlocuirea unui aminoacid cu radical hidrofob cu un altul cu radical hidrofil) duce la alterarea funcției proteinei respective.

Scanned with OKEN Scanner

Aminoacizi esențiali și neesențiali

Organismul uman poate sintetiza 10 din cei 20 de aminoacizi necesari în vederea obținerii proteinelor. Acei aminoacizi care nu pot fi sintetizati de către organism și sunt introdusi în organism prin dietă se numesc *aminoacizi esențiali*. Aminoacizii esențiali sunt: arginina, histidina, leucina, izoleucina, lizi-na, metionina, fenilalanina, treonina, triptofan si valina. Tirozina este obținută din fenilalanină, din acest motiv dacă dieta este săracă în fenilalanina va fi afectată și sinteza tirozinei.

Aminoacizi. Funcții biochimice în organismul uman

Unii aminoacizi îndeplinesc rolul de neurotransmițători: acidul glutamic, acidul aspartic, serotonina, acidul gama-amino butiric (GABA) și glicina. Acidul glutamic (glutamatul) liber se găsește în alimente, inclusiv brânză și sosul de soia și este responsabil pentru simțul gustului. Este deasemenea folosit ca întăritor de aromă și aditiv alimentar sub formă de glutamat de sodiu. Acidul glutamic este cel mai frecvent neurotransmițător cu rol excitator la nivelul sistemului nervos central la vertebrate.

Glutamatul este stocat în vezicule la nivelul sinapselor și provine din dietă sau din conversia α-cetoglutaratului derivat din ciclul Krebs. Datorită rolului său în plasticitatea sinaptică, acidul glutamic este implicat în funcții cognitive cum ar fi învățarea și memoria. La nivelul membranei neuronale și a celulelor gliale se găsesc transportorii de glutamat care elimină rapid glutamatul din spatiul extracelular și previn o excitatie prelungită, anormală a neuronului.

În traumatismele cerebrale, excesul de glutamat se acumulează în afara celulelor. Acest proces determină intrarea ionilor de calciu în celulă prin intermediul receptorilor NMDA (N-metil D-aspartat), ceea ce duce la deteriorarea neuronală și moarte celulară, fenomen numit și excitotoxicitate. Excitotoxicitatea datorită glutamatului apare după AVC (accidentele vasculare cerebrale), precum și cu alte boli cum ar fi scleroza laterală amiotrofică (SLA), autism, unele forme de retard mental și boala Alzheimer.

Acidul glutamic este implicat și în apariția crizelor epileptice. Glutamatul poate fi utilizat, de asemenea în sinteza GABA, cu rol inhibitor la nivelul neuro nilor GABA-ergici. Această reacție este catalizată de glutamatdecarboxilază care se găsește în cantități mari în cerebel și pancreas. Sindromul Stiffman este o tulburare neurologică caracterizată prin scăderea sintezei GABA, ce determină afectarea funcției motorii, manifestată prin hipertonie musculara.

Acidul gama-amino-butiric (GABA) acționează prin intermediul a doi receptori, GABA-A și GABA-B, ceea ce permite controlul farmacologic al acțiunii acestuia prin modulatori allosterici pozitivi sau negativi. Compușii care inhibă transmisia GABA produc crize epileptice, confirmând astfel rolul inhibitor major pe care aceștia îl îndeplinesc în funcționarea normală a creierului (Fig. 1.12).

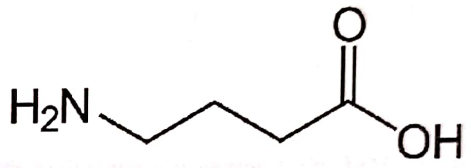


Figura 1.12 *Formula de structură a acidului gama-amino-butiric (GABA).*

Glicina este un neurotransmițător cu rol inhibitor în sistemul nervos central, în special în măduva spinării, trunchiul cerebral și retină. Este și precursorul porfirinelor în organism (HEM-ului)

Acidul aspartic are și el rol de neurotransmițător cu proprietăți excitatorii. Atât acidul aspartic, cât și acidul glutamic participă la reacțiile de transaminare la nivelul celulelor. Deoarece la nivelul neuronilor ei pot fi interconvertiți, este greu de distins între neuronii glutamatergici și cei care folosesc aspartatul ca neurotransmițător.

Pornind de la *triptofan*, în organism se sintetizează 5-hidroxitriptamina sau serotonina (Fig. 1.13A) care este un neurotransmițător cu funcții diverse: în ser reglează tonusul vaselor (de aici și numele de *serotonin*), în timp ce în sistemul nervos este sintetizat "*basal ganglia*" și responsabil de procesele de dependență hedonică ale creierului (Fig. 1.13B).

Alți derivați de importanță fiziologică ai triptofanului sunt 5-hidroxitriptofanul (5-HT) (Fig. 1.14) folosit în tratamentul depresiei,

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOTECA JUDETEANA „GH.ASACHI"

și L-DOPA (dihidroxifenilalanina)(Fig. 1.15)folosită în terapia bolii Parkinson.

Arginina este precursorul oxidului nitric (molecula cu rol de semnalizare în organism), precum și precursorul ureei din ciclul ureogenetic. Oxidul nitric (NO) este folosit în tratamentul hipertensiunii arteriale.

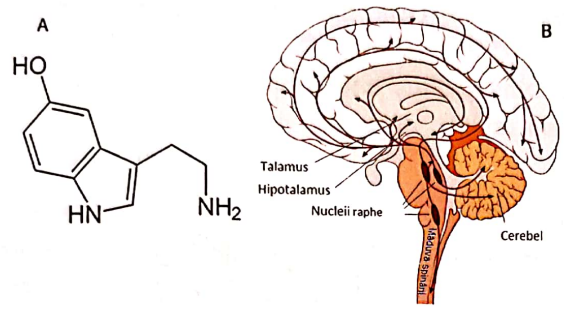


Figura 1.13 *Formula de structură a serotoninei (A) căile serotoninergice în sistemul nervos central.*

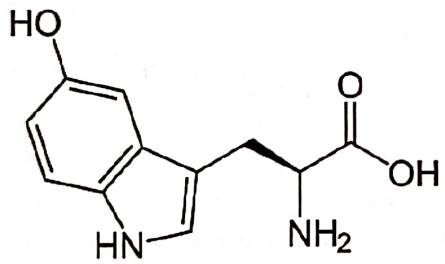


Figura 1.14 *Formula de structură a 5-hidroxitriptofanului (5-HT).*

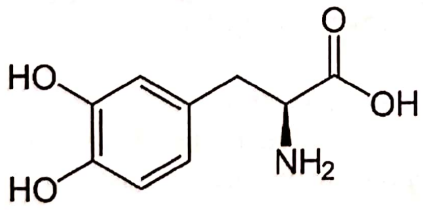


Figura 1.15 *Formula de structură a dihidroxifenilalanina(L-DOPA).*

Patobiochimia aminoacizilor

Există o serie de boli care se datorează unor aminoacizi, afecțiuni numite generic aminoacidopatii. Dintre acestea menționăm pe cele mai importante:

- Fenilcetonuria este determinată de lipsa unei enzime (fenilalaninhidroxilaza) ce catalizează transformarea fenilalaninei în tirozina, ca urmare concentrația fenilalaninei crește în plasmă și urină.
- Cistinuria: este un defect transmis genetic în sistemul de transport al membranei celulelor epiteliale pentru cistină și aminoacizi bazici. Acești aminoacizi se acumulează în urină și ca urmare, se pot forma calculi renali care conțin cistină.
- Boala Hartnup constă în transportul defectuos al aminoacizilor neutri și creșterea în consecință, a concentrației acestora în urină. Majoritatea pacienților rămân asimptomatici, o mică parte prezentând o varietate largă de manifestări clinice: fotosensibilitate, ataxie cerebeloasa și alte manifestări neurologice și psihiatrice ce afectează calitatea vieții.
- Sindromul Fanconi constă din reabsorbția anormală de către celulele tubulare a aminoacizilor, fosfatului și glucozei. Este o boala rară, congenitală sau dobândită, idiopatică (de cauza necunoscută) sau secundară altor afecțiuni, în care există o disfuncție a tubulilor renali însoțită de aminoacidurie, fosfaturie și glicozurie.

Scanned with OKEN Scanner

2B. PEPTIDE

Structura primară a proteinelor este deteminată de numărul aminoacizilor precum și de ordinea în care aceștia se leagă între ei prin legătura peptidică. Datorită prezenței grupărilor carboxil în structura aminoacizilor aceștia pot participa la reacții de condensare între gruparea carboxil (-COOH) a unui aminoacid și gruparea amino a aminoacidului următor cu eliminarea unei molecule de apă (Fig 2.1). Legătura formată se numește legătură peptidică, și reprezintă modalitatea de înlănțuire a aminoacizilor din structura proteinelor reprezentând cea mai importantă proprietatea a acestora.

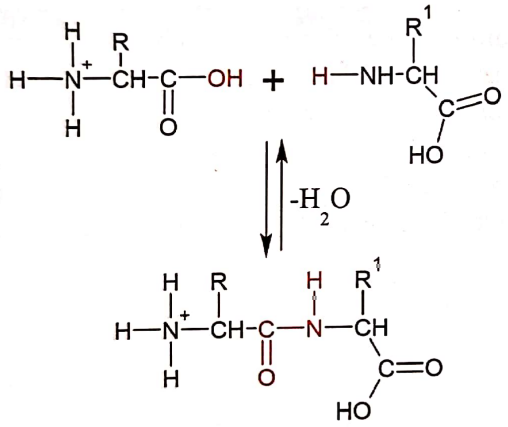


Figura 2.1 *Reacția de condensare dintre doi aminoacizi cu eliminarea unei molecule de apă reprezintă cea mai importantă proprietate chimică a aminoacizilor.*

Peptidele sunt alcătuite din 2 până la 50 de unități de aminoacid și au o structură spațială neregulată (Fig. 2.2).

În funcție de numărul aminoacizilor condensați ,peptidele se pot clasifica astfel:

- oligopeptide – conțin până la 10 resturi de aminoacizi. Se pot distinge: di-, tri-, tetrapeptide până la decapeptide
- polipeptide – conțin peste 10 resturi de aminoacizi

Denumirea peptidelor se realizează prin convenție, de la stânga la dreapta, începând cu capătul amino- terminal (la stânga) și terminând cu capătul carboxil-terminal (la dreapta)(Fig. 2.3). Unitatea de aminoacid se numește reziduu.

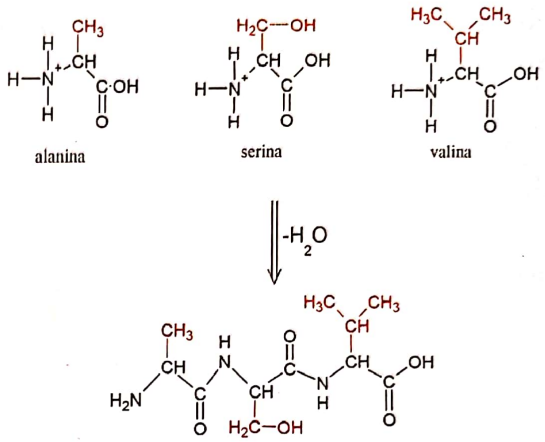


Figura 2.2 *Prin condensarea a doi sau mai multor aminoacizi se elimină apă și rezultă polipeptide*

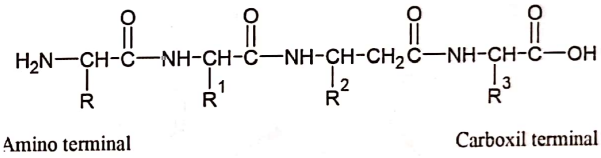


Figura 2.3 *Denumirea peptidelor se realizează prin conventie, de la stânga la dreapta, începând cu capătul amino- terminal (la stânga) și terminând cu capătul carboxil-terminal (la dreapta)*

Peptidele îndeplinesc în organism numeroase roluri funcționale, ele pot fi vasoconstrictoare, antioxidanti, hormoni, neurotransmițători, etc.

Dipeptide bioactive

Carnozina (*beta*-alanil-L-histidina) (Fig. 2.4) se găsește în concentrație mare în țesutul muscular și în creier.

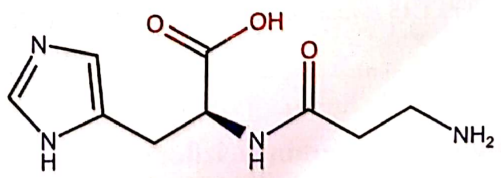


Figura 2.4 *Formula de structură a carnozinei*

Scanned with OKEN Scanner

Carnozina un dipeptid alcătuit din alanină şi histidină ce îndeplineşte în organism funcţii importante:

1. are rol antioxidant, protejând organismul împotriva speciilor reactive de oxigen
2. intervine în stimularea sistemului imun
3. are efect anti-îmbătrânire
4. creşte eficienţa exerciţiilor fizice prin stimularea contracţiei şi prevenirea instalării oboselii musculare, prin stimularea glicolizei şi a sintezei creatinfosfatului
5. la nivelul creierului are efect antiischemic, de sistem tampon şi este utilizat în sinteza unor neurotransmiţători

L-carnozina este un antioxidant eficient, având un rol protector în leziunile musculo-scheletale şi ale sistemului nervos.

Anserina (beta-alanil-N-metil histidina) (Fig. 2.5) se găseşte în muşchiul scheletic şi creierul mamiferelor. Are rol antioxidant, previnid oboseala musculară. Datorită histidinei din structură, acţionează la pH fiziologic şi ca sistem tampon. Ambele dipeptide sunt considerate *atipice* nefiind constituite numai din α aminoacizi, fiecare având pe lângă un rest de α–aminoacid (histidina) şi un β aminoacid (β alanina).

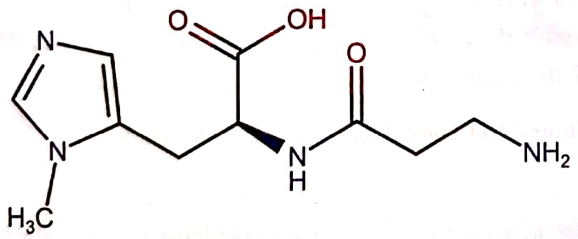


Figura 2.5 *Formula de structură a anserinei*

Homocarnosina [N-(4-Aminobutiril)-L-histidine] (Fig. 2.6) este un alt dipeptid identificat în creier şi în muşchiul mamiferelor alături de homocarnozina, a căror funcţie exactă rămâne a fi elucidată. Homocarnozina a fost descrisă ca fiind principala formă conjugată a GABA.

Kiotorfina (L-tirosil-L-arginina) (Fig. 3.7) este un neuropeptid activ cu rol analgezic la nivelul creierului. Are rol de neuromodulator, nivelul acesteia în lichidul cefalorahidian fiind scăzut la pacienţii cu dureri persistente.

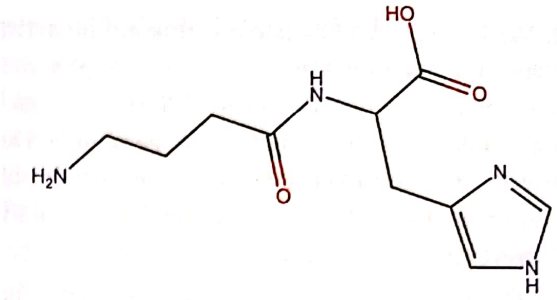


Figura 2.6 *Formula de structură a homocarnosinei*

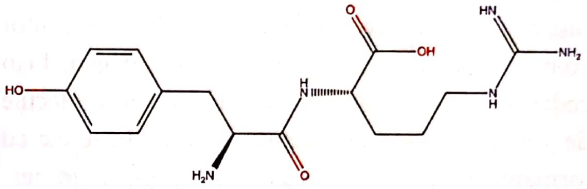


Figura 2.7 *Formula de structură a kiotorfinei*

Peptidele pot fi obţinute şi prin sinteză în laborator, aceşti compuşi fiind utilizaţi în scop terapeutic sau ca aditivi alimentari. Un exemplu îl constituie **aspartamul** care este folosit ca îndulcitor artificial non-glucidic, sub abrevierea E951(Fig. 2.8). Acesta este un ester metilic al dipeptidului alcătuit din acid L-aspartic şi L-fenilalanină şi este de 200 de ori mai dulce decât zaharul, are gust diferit ce apare cu întârziere, dar şi persistă mai mult timp.

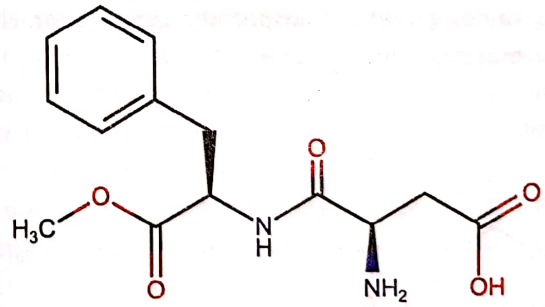


Figura 2.8 *Formula de structura a aspartamului*

Tripeptide bioactive

Lacto-tripeptidele biologic active sunt reprezentate de produşii de hidroliză enzimatică a cazeinei din lapte:

1. Ile-Pro-Pro (IPP) – este un tripeptid alcătuit din izoleucina şi prolina, cu efecte antihipertensive. Se presupune de asemenea că îmbunătăţeşte funcţia endoteliului vascular la pacienţii cu boală coronariană (Joseph Vita, 2009).

Scanned with OKEN Scanner

2. Val-Pro-Pro (VPP) –este un tripeptid bioactiv, alcătuit din valină și prolină. Acesta prezintă proprietăți hipotensive, prin inhibiția ACE (enzima de conversie a angiotensinogenului I). De asemenea, controlează aderarea monocitelor la endoteliul vascular inflamat, având astfel rol în prevenirea aterosclerozei.

Glutationul este un tripeptid alcătuit din L-cisteina, acid L-glutamic și L-glicina (Fig. 2.9). În forma redusa (G-SH) gruparea tiol a cisteinei este capabilă să cedeze echivalenți reducători(H^+ si e-) altor compuși, precum speciile reactive de oxigen. Prin cedarea echivalenților reducători, două molecule de glutation devenite reactive, se leagă între ele cu formarea glutationului oxidat (G-S-S-G). La o persoană sănătoasă, glutationul oxidat nu depășește 10% din totalul de glutation și o creștere a raportului glutation oxidat/glutation redus este un indicator util al stresului oxidativ.

Glutationul îndeplinește în organism numeroase funcții:

- este agent antioxidant, prin neutralizarea speciilor reactive de oxigen
- este un important modulator al sistemului imun
- intervine într-o serie de procese metabolice importante pentru organism: activarea enzimelor, sinteza proteică, transportul aminoacizilor, eliminarea xenobioticelor.

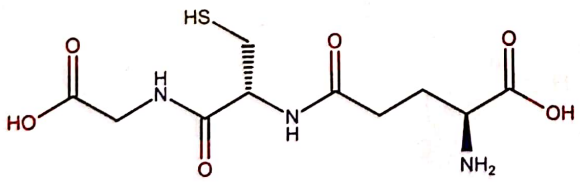


Figura 2.9 *Formula de structură a glutationului*

Glutationul îndeplinește de asemenea funcții importante în sistemul nervos cum ar fi rol neuroprotector și de modulare a neurotransmisei glutamatergice cu posibile implicații în procesele de învățare și memorie. Nivelul glutationului este alterat în afecțiuni precum: boala Parkinson, boala Alzheimer, scleroza laterală amiotrofică (SLA), schizofrenie și sindromul oboselii cronice.

Thyrotropin-releasing-hormone (TRH)este un hormon tripeptidic (Piro-Glu-His-Pro) sintetizat de hipotalamus (nucleul paraventricular) și stimulează eliberarea de TSH (**Thyrotropin-stimulating-hormone**) și prolactina de la nivelul hipofizei (Fig. 2.10).

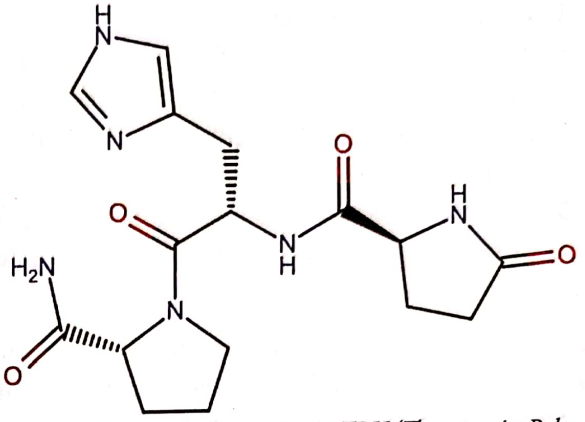


Figura 2.10 *Formula de structură a TRH (Thyrotropin-Releasing-Hormone)*

Pentapeptide bioactive

Encefalinele sunt pentapeptide ce se găsesc la nivelul glandei pituitare, creierului și tractului gastrointestinal (Fig. 2.11).

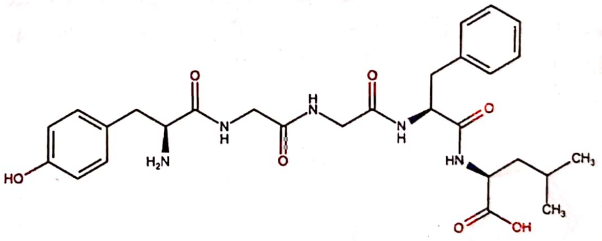


Figura 2.11 *Formula de structură a encefalinelor*

Encefalinele intră în clasa peptidelor *opioide* alături de endorfine, deoarece se leagă la receptorii pentru opioide din organism.
Encefalinele *reglează senzația de durere* la nivelul organismului. Se cunosc două tipuri de encefaline:

- unul ce conține metionina: Tyr-Gly-Gly-Phe-**Met**
- și altul ce conține leucina: Tyr-Gly-Gly-Phe-**Leu**

Ele funcționează ca neuromediatori și neurotransmițători inhibitori în percepția durerii, reducând astfel impactul fizic al durerii asupra pacienților. Mecanismul lor de acțiune este încă insuficient cunoscut.

Scanned with OKEN Scanner

Endorfinele sunt polipeptide alcătuite din mai multi aminoacizi. Au fost descrise trei tipuri de endorfine (alfa, beta şi gama), eliberate de glanda pituitara sau alte regiuni ale creierului ce acţionează ca *inhibitori ai senzaţiei de durere*. Endorfina beta este alcătuita din 30 de aminoacizi şi este secretată în lichidul cefalo rahidian (LCR) sub acţiunea unui stimul dureros (Fig. 2.12)

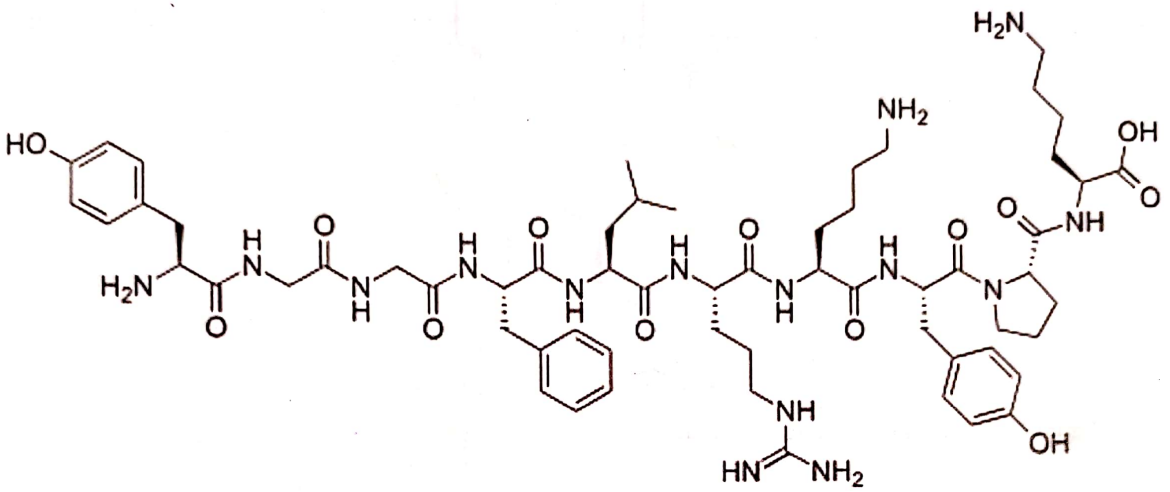


Figura 2.12 *Formula de structură a endorfinei beta*

Hormoni peptidici

În afară TRH, descris anterior, există în organism şi alte peptide cu funcţie de hormoni. **Oxitocina** şi **vasopresina** sunt peptide alcătuite din 9 resturi de aminoacizi (nonapeptide) ce prezintă structură ciclică. Sunt hormoni izolaţi iniţial din neurohipofiza de oaie şi au o structură similară, care diferă prin 2 aminoacizi, la poziţiile 3 şi 8.

Oxitocina conţine izoleucină şi leucină, în poziţia 3 şi respectiv 8 (Fig. 2.13) şi este secretat de către hipofiză. Funcţii biologice: *contracţia uterului în timpul travaliului, stimularea secreţiei şi eliberării de lapte de la nivelul glandei mamare.* Perfuzia cu oxitocină este folosită pentru a stimula contracţia uterină şi a induce travaliul uterin, favorizând astfel naşterea.

Vasopresina (ADH – hormonul antidiuretic) conţine fenilalanină şi arginină în poziţiile 3 şi 8 (Fig. 2.14) determină vasoconstricţie, creşterea presiunii sanguine şi prezintă proprietăţi antidiuretice.

Insulina este un hormon polipeptidic alcătuit din 51 de aminoacizi (Fig. 2.15), sintetizat de către pancreas (celulele β ale insulelor Langerhans). Favorizează captarea glucozei de către celule (efect hipoglicemiant). Este hormonul "antidiabetic" descoperit de către biochimistul roman Nicolae Paulescu (1921) dar acreditat cercetătorilor canadieni Banting şi Bes. Structura insulinei este conservata în regnul animal, diferind doar prin câţiva aminoacizi dar nu în puncte cheie care să îi afecteze activitatea.

Insulina a fost izolată din pancreasul bovin şi de la porc, aceste specii având o structură a insulinei asemănătoare cu cea umană şi din acest motiv au fost utilizate mult timp în tratamentul diabetului zaharat. Insulina este sintetizată iniţial ca un singur lanţ polipeptidic (proinsulina – 86 de aminoacizi) care este apoi clivat în peptidul C (35 de aminoacizi) şi molecula de insulină activă ce conţine două lanţuri: *lantul A* (21 de aminoacizi) şi *lantul B* (30 de aminoacizi). Aceste două lanţuri se pliază în spaţiu fiind legate între ele prin legături disulfidice între grupările tiol ale cisteinei din structura sa.

Secvenţa insulinei a fost stabilită de către Sanger în anul 1955, care a folosit fluoro-dinitrobenzenul (FDNB) pentru a distinge capătul amino-terminal al diferitelor fragmente peptidice. El a fragmentat insulina în molecule mai mici cu ajutorul acidului clorhidric sau enzimatic şi apoi a separat şi identificat fiecare fragment cu ajutorul electroforezei urmată de cromatografie pe hârtie. Capetele amino terminale au putut fi identificate prin culoarea galbenă dată de FDNB, acesta fiind ulterior identificat prin hidroliză completă.

Scanned with OKEN Scanner

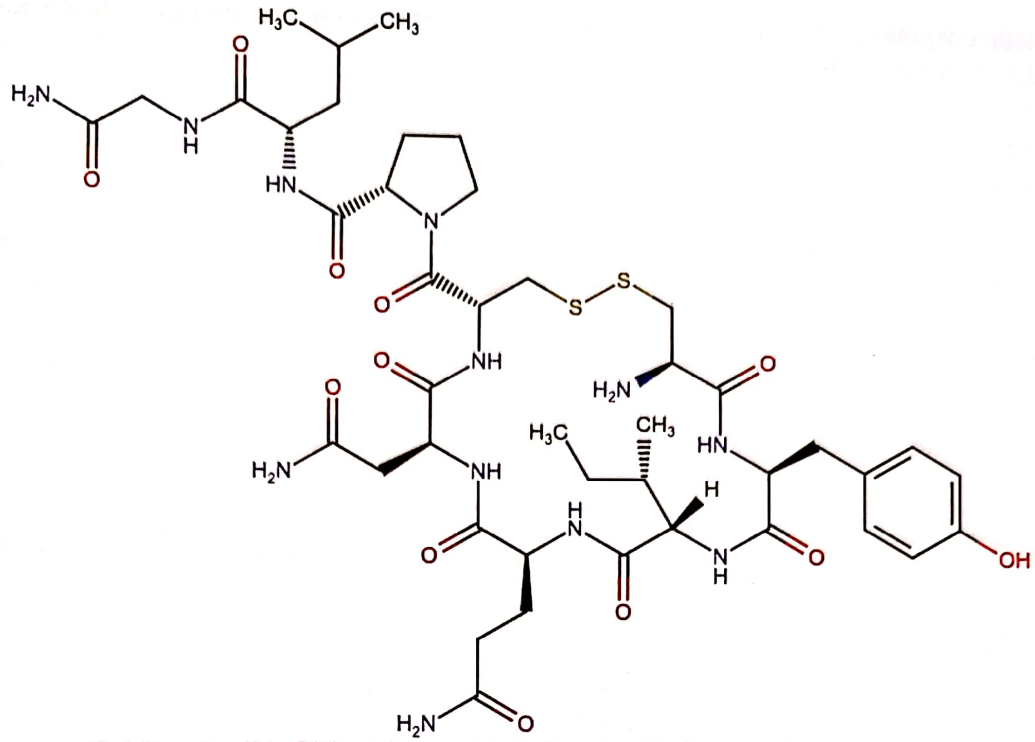


Figura 2.13 *Formula de structură a oxitocinei*

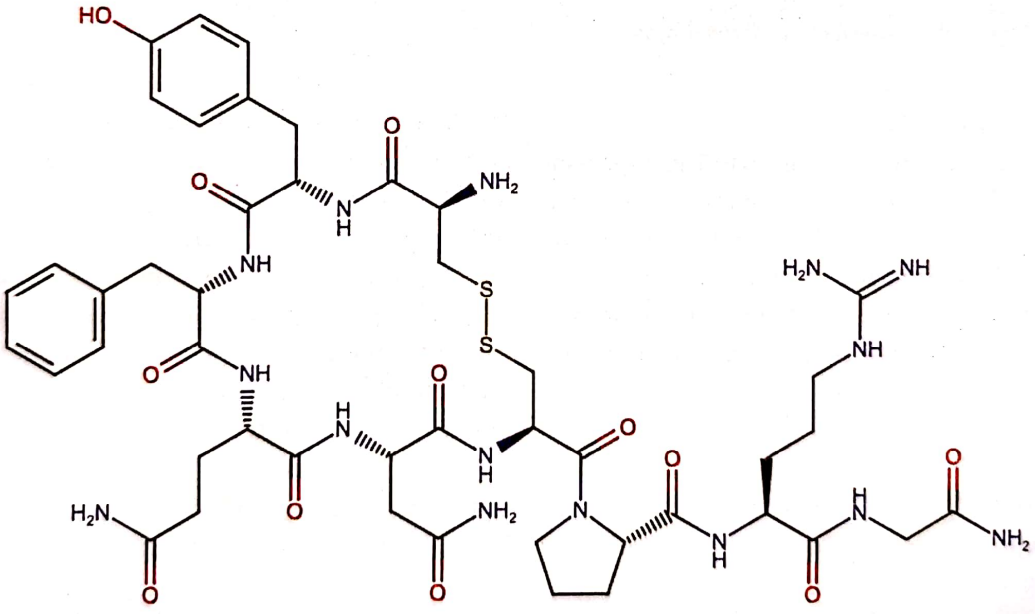


Figura 2.14 *Formula de structură a vasopresinei*

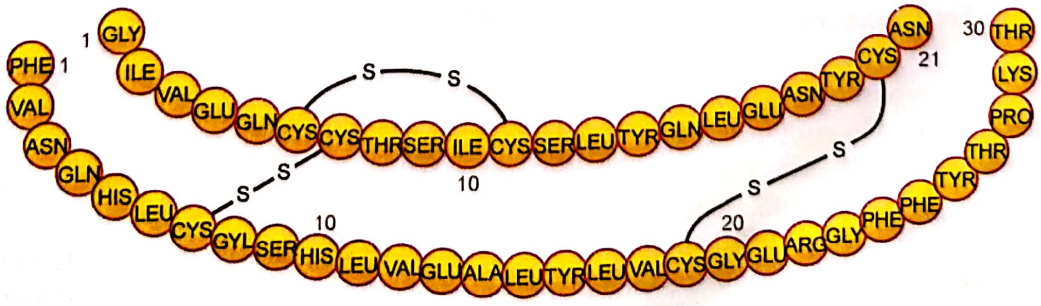
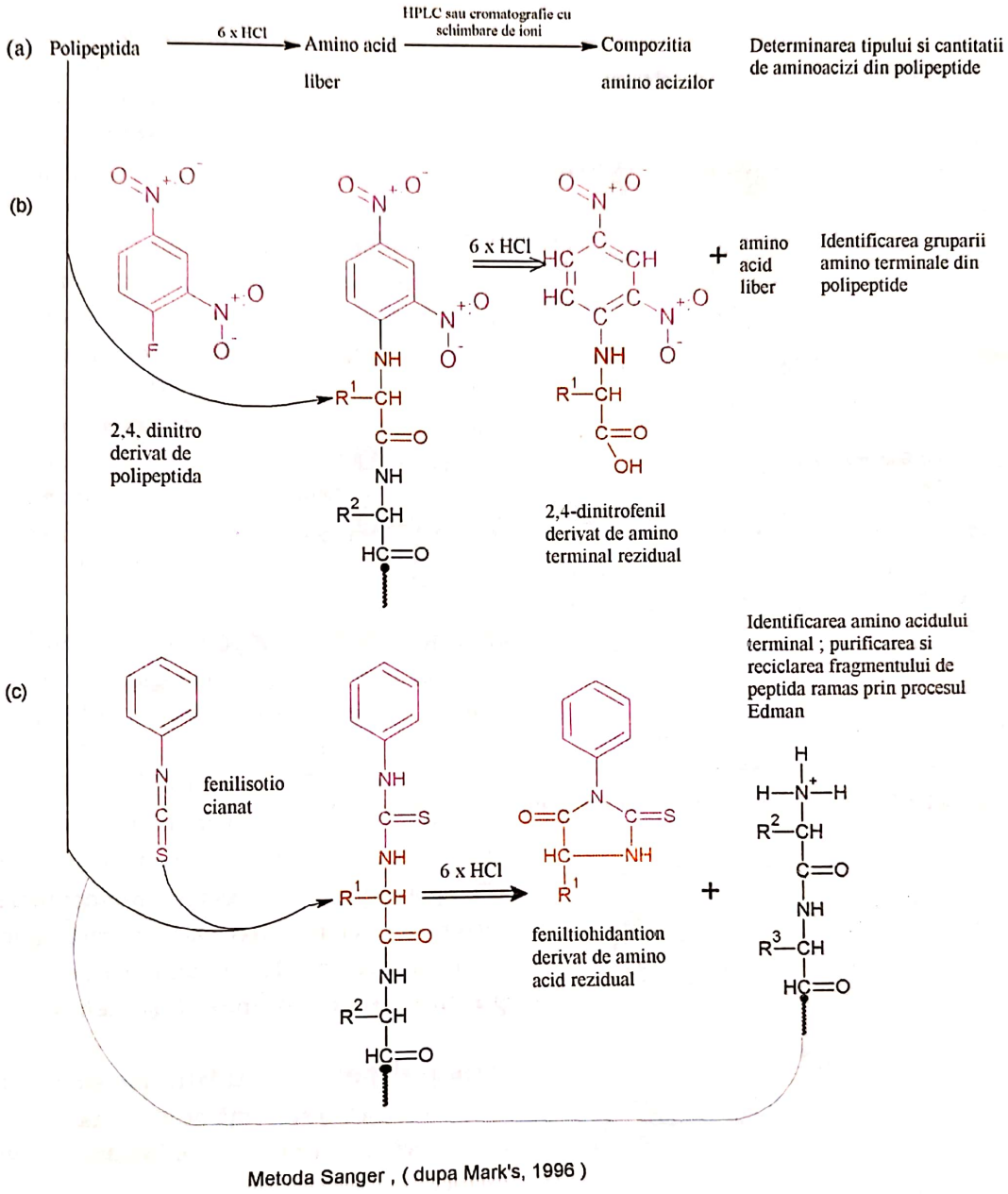


Figura 2.15 *Formula de structura a insulinei*

Scanned with OKEN Scanner

Repetând acest proces, Sanger a izolat şi identificat multe secvenţe polipeptidice pe care apoi le-a asamblat clarificând astfel secvenţa insulinei (Fig. 2.16).

Glucagonul este hormon peptidic *antagonist insulinei*, cu acţiune *hiperglicemiantă*, sintetizat de către pancreas (celulele α din insulele Langerhans)(Fig. 2.18).



Metoda Sanger , (dupa Mark's, 1996)

Figura 2.16 *Metoda Sanger de determinare a secvenţei de aminoacizi a peptidelor*

Astăzi se folosesc insuline sintetice create prin tehnici de ADN recombinat care au structură identică cu cea umană şi nu prezintă riscul dezvoltării unui raspuns imun la administare (Fig. 2.17). Administrarea lor se realizează subcutanat prin injecţii sau cu ajutorul unor pompe de insulină.

Glucagonul favorizează eliberarea glucozei din rezerve. A fost decoperit pentru prima dată în anul 1920 de către Kimball şi Murlin dar structura lui a fost elucidată mult mai târziu, spre sfârşitul anului 1950.

Scanned with OKEN Scanner

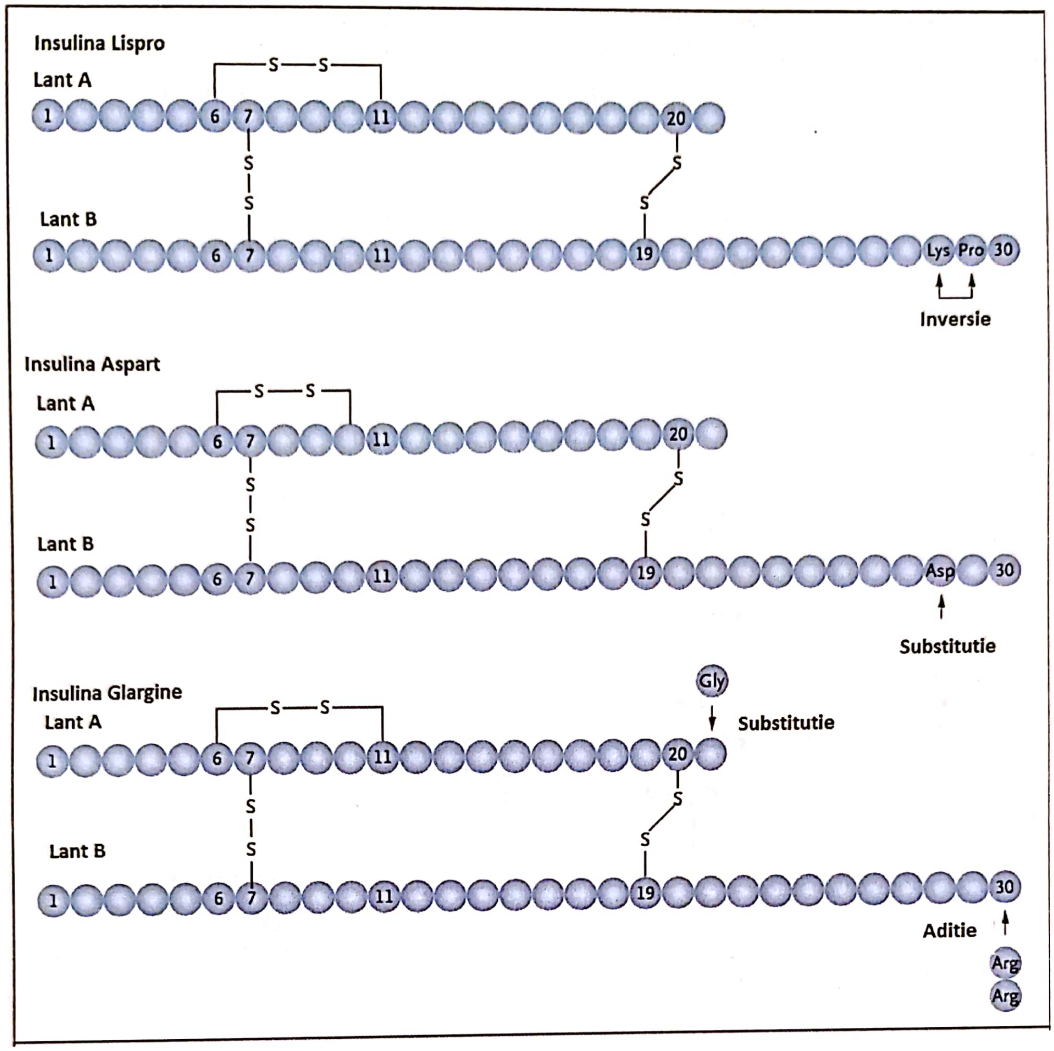


Figura 2.17 *Formula de structură a variantelor de insulină folosite în terapia diabetului*

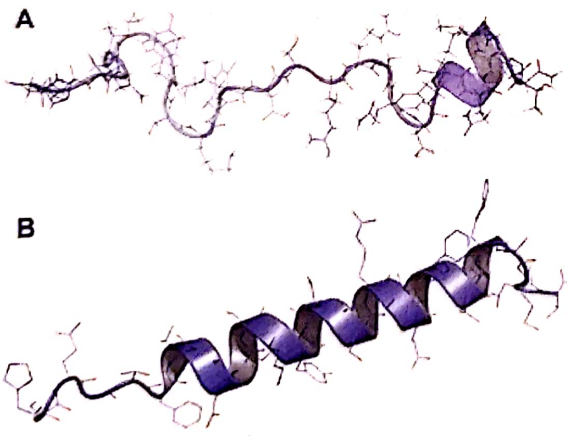


Figura 2.18 Formule de structură pentru glucagon determinate prin RMN (A) sau cristalografie cu raze X (B)

Glucagonul este un polipeptid alcătuit din 29 de aminoacizi, cu structură monocatenara ce conține în structura sa doi aminoacizi esențiali: metionina și triptofanul.

Glucagonul prezintă receptori specifici prezenți în membrana celulară (receptori pentru glucagon), aceștia sunt receptori de tip adrenergic ce acționează prin intermediul proteinelor G și adenilat ciclazei.

Alte polipeptide cu funcție de hormoni

Calcitonina are o secvență de 32 resturi de aminoacizi, secretată de tiroidă, având o acțiune hipocalcemiantă.

Parathormonul are o secvență de 84 resturi de aminoacizi, este secretat de paratiroidă și are efect hipercalcemiant.

Colecistokinina – este o polipeptidă formată din 33 resturi de aminoacizi având rol în producerea con tracției la nivelul veziculei biliare.

Scanned with OKEN Scanner

Corticotropina sau hormonul adrenocorticotrop hipofizar (ACTH) este o polipeptidă formată din 39 resturi de aminoacizi, cu rol în stimularea biosinteza hormonilor corticosteroizi.

Alte peptide cu rol biochimic

Sistemul renină-angiotensină-aldosteron (RAA) – îndeplineşte un rol important în reglarea presiunii arteriale şi homeostazia sodiului. *Angiotensina II* este o proteină ce determină *vasoconstrictie* (creşte rezistenţa vasculară) şi stimulează secreţia de aldosteron care va mări reabsorbţia de sodiu la nivelul tubului contort distal din rinichi. Consecinţa este hipertensiunea arterială. Angiotensina este eliberată dintr-un precursor numit *angiotensinogen*, o globulină serică sintetizată în ficat ce este convertit sub acţiunea *reninei* (secretată de aparatul juxtaglomerular din rinichi) în *angiotensinogenI* şi mai departe sub acţiunea enzimei de conversie (*ACE- Angiotensin Converting Enzime*) acesta este transformat în *angiotensina II.*

Renina clivează legătura peptidică dintre resturile de Leu şi Val ale angiotensinogenului rezultând un decapeptid: angiotensina I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu). Angiotensina I pare sa nu aibă activitate biologică, rolul ei fiind de precursor pentru angiotensina II. ACE se găseşte predominant la nivelul capilarelor pulmonare şi este ţinta terapeutică principală în terapia hipertensiunii arteriale. Prezintă şi acţiune antagonistă *factorului natriuretic atrial* (NAP)– un peptid alcătuit din 28 de aminoacizi ce este sintetizat, stocat şi eliberat de către miocitele atriale, ca răspuns la hipervolemie (creşterea volumului sanguin) şi insuficienţa cardiacă congestivă. Forma de depozitare este de pre–pro NAP, ce este clivat în pro-NP şi apoi în NAP (forma activă biologic).

Peptide cu acţiune antimicrobiană

Peptidele antimicrobiene sunt medicamente utile în terapia antimicrobiană cu germeni rezistenţi la antibiotice. Ele sunt denumite bacteriocine şi sunt polipeptide sintetizate la nivelul ribozomilor cu efect bacteriostatic sau bactericid. Recent s-a dovedit că ele au şi activitate antifungică.

Mecanismul lor de acţiune se manifestă prin inhibiţia formării peretelui celular bacterian sau prin formarea de pori în membrana celulară care determină în final liza celulei bacteriene (Fig. 2.19).

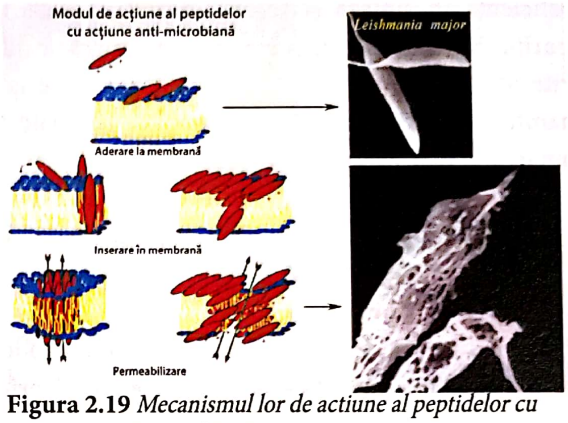


Figura 2.19 *Mecanismul lor de actiune al peptidelor cu activitate anti-microbiană*

Valinomicina(izolată din Streptomyces fulvissimus) este un dodecapeptid alcătuit din 3 unităţi ce conţin la rândul lor 4 reziduuri diferite de aminoacizi (D-valina, L-lactat, L-valina, D-hidroxiizovalerate), dispuse într-o structură ciclică (Fig. 2.20A).

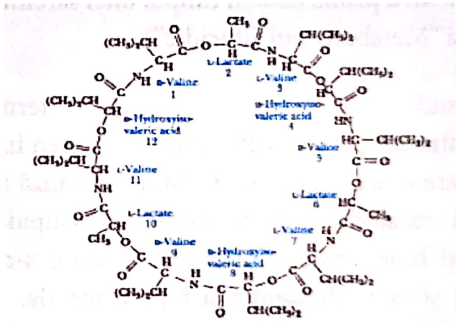


Figura 2.20 *Structura ciclică a valinomicinei (A)*

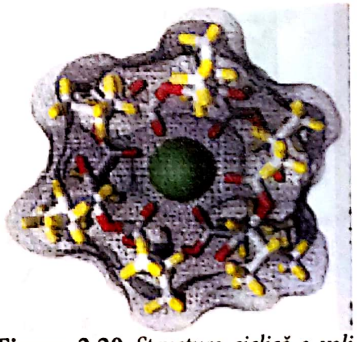


Figura 2.20 *Structura ciclică a valinomicinei cu formarea unui por care permite translocarea ionului de potasiu (B)*

Valinomicina transportă în centru ioni de potasiu (verde)(Fig. 2.20 B) ceea ce duce la colapsul po

Scanned with OKEN Scanner

tențialului de membrană care în mod natural este de -70 mV, și din acest motiv este folosită ca antibiotic.

Patobiochimie

Deficiența în sinteza și secreția insulinei duce la apariția hiperglicemiei, stare ce caracterizează diferite afecțiuni precum: Diabetul zaharat care are manifestări majore la nivel metabolic. El poate fi împărțit în patru subtipuri:

1. diabet zaharat insulino-dependent (tip 1) – caracterizat printr-o deficiența absolută de insulină (Fig. 2.21, 2.22)
2. diabet zaharat insulino independent (tip 2) – este asociat de obicei cu alți factori metabolici și genetici (obezitate) și se caracterizează prin insulinorezistență
3. toleranță alterată la glucoză (IGT – "impaired glucose tolerance") – nu are manifestări clinice, depistarea ei se realizează numai prin determinarea unui nivel crescut al glucozei sanguine
4. diabet gestational – este diabetul care apare pentru prima dată în timpul unei sarcini (vezi și "Metabolismul Glucidic")

Sindromul metabolic sau sindromul X - termenul a fost introdus pentru prima dată de Reaven în anul 1988, care descria astfel o afecțiune de cauză necunoscută caraterizată prin obezitate, dislipidemie, diabet și hipertensiune arterială. Ulterior s-a mai adăugat și hiperfibrinemie și hiperuricemie. Toate aceste componente au la bază o rezistență periferică a unor țesuturi la acțiunea insulinei, consecința fiind hiperinsulinemia.

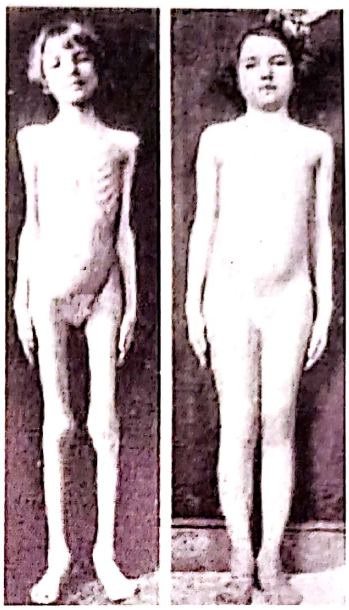


Figura 2.21 *Prima pacientă cu diabet zaharat (Elisabeth Evans Hughes, 11 ani), înainte și după începerea tratamentului cu insulină în 1919.*

Hiperinsulinemia este responsabilă de apariția hipertensiunii arteriale și a bolilor cardiovasculare, acestea fiind frecvent consecința unui sindrom metabolic. Insulinorezistența întâlnită în aceste tipuri de diabet se datorează unui defect "post-receptor". Anomalii genetice ale receptorului de insulină sunt responsabile de apariția, în populația africană, a unor forme de diabet precum: *acanthosis nigricans* și diabetul lipoatrofic (vezi și "Metabolismul Lipidic").

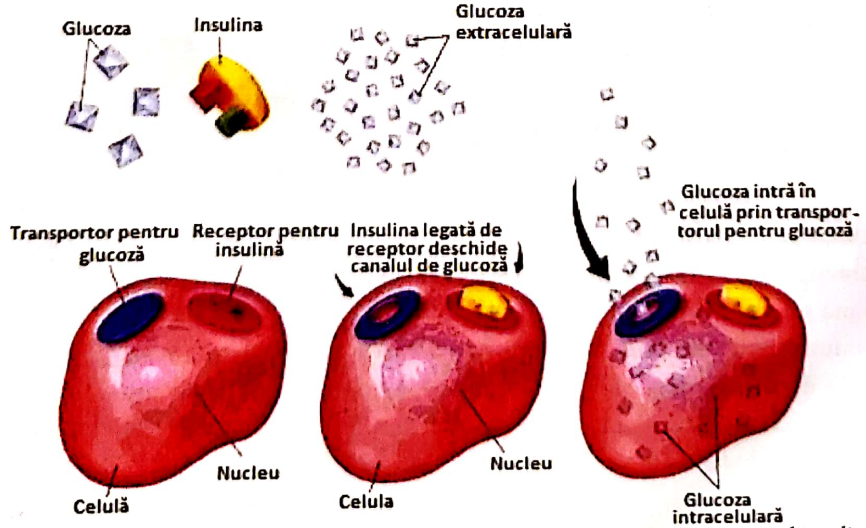


Figura 2.22 *Captarea glucozei de către celule este mediată de legarea insulinei de receptorul insulinic prezent pe suprafața celulei*

Scanned with OKEN Scanner

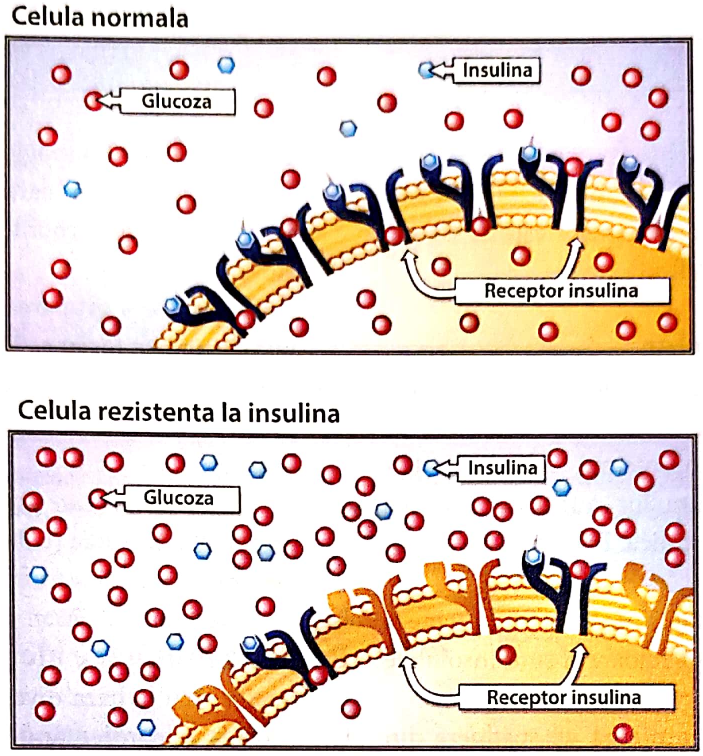


Figura 2.23 *Rolul insulinei: Pacienții cu defecte la nivelul receptorilor de insulină pot prezenta diabet zaharat tip II (insulinorezintență).*

Scanned with OKEN Scanner

3. PROTEINE

Proteinele sunt molecule mari ce conţin între 50 şi uneori şi 1000 de reziduuri de aminoacizi. Cea mai importantă caracteristică a proteinelor este că ele posedă o structură 3D bine definită.

Clasificarea proteinelor

Proteinele pot fi clasificate în funcţie de compoziţia lor, astfel:

A. Proteine simple (holoproteine) – sunt proteine care conţin în structura lor numai aminoacizi înlănţuiţi prin legatură peptidică. Din aceasta categorie fac parte:

1. Proteine fibroase – sunt numite şi scleroproteine şi au funcţie de suport sau protectoare şi sunt insolubile în apă. Din aceasta categorie de proteine fac parte:

- Colagenul: principala proteină de susţinere din structura pielii, tendoanelor şi măduvei. Conţine o cantitate mare de hidroxiprolină.
- Elastina: se găseşte în ţesutul elastic de la nivelul tendoanelor şi arterelor.
- Keratina: predomină la nivelul tegumentelor, unghiilor, părului. Conţine o cantitate mare de cistină.

2. Proteine globulare– sunt proteine solubile cu masa moleculară bine definită. Fiecare moleculă conţine unul sau mai multe lanţuri peptidice legate între ele prin punţi disulfidice sau prin alte tipuri de legături. Ele au formă globulară cu părţile hidrofile orientate spre exterior şi cele hidrofobe dispuse spre interior. Această categorie de proteine cuprinde:

- Albumine - includ ovalbumina (din ou), lactalbumina (din lapte), albumina serică, hemoglobina, insulina, enzime şi anticorpi.
- Globuline - includ globulinele serice, lactoglobulinele din lapte şi tireoglobulina din glanda tiroidă.
- Protamine şi histone - intră în structura acizilor nucleici.

B. Proteine conjugate sau heteroproteine

Sunt acea clasă de proteine care conţin în afară de partea proteică şi o parte prostetică. În funcţie de structura lor, se pot clasifică astfel:

- nucleoproteine
- cromoproteine (hemoglobina)
- glicoproteine - în care partea prostetică este reprezentată de carbohidrati sau derivaţi ai acestora
- fosfoproteine – gruparea prostetică este reprezentată de un rest fosfat
- metaloproteine – ce conţin metale drept grupare prostetică (cupru, mangan, magneziu, zinc, molibden)
- lipoproteine – în care gruparea prostetică este reprezentată de lipide (colesterol, fosfolipide, trigliceride)

Rolurile biologice ale proteinelor

Proteinelor stau la baza diversităţii structurilor celulare şi tisulare reprezentând esenţa proceselor vitale. Exemple:

- toate enzimele sunt alcătuite dintr-o parte proteică
- mulţi hormoni sunt proteine ca structură
- proteinele servesc drept temelie pentru structurile celulare şi subcelulare
- intervin în apararea antiinfecţioasă ca anticorpi
- intervin în procesul de coagularea sângelui (trombina, fibrinogenul)
- asigură transportul diferiţilor compusi intra- şi extracelular
- sunt sisteme tampon.

Structura proteinelor

Proteinele prezintă patru nivele de organizare structurală, organizare care dictează şi funcţiile acestora: structura primară, secundară, terţiară şi cuaternară (Fig. 3.1).

1. Structura primară – reprezintă simpla înşiruire a aminoacizilor în lanţul proteic prin legătura peptidică. Secvenţa aminoacizilor fiind dictată de codul genetic şi este expresia mesajului genetic înscris în ADN. Este importantă cunoaşterea structurii primare a proteinelor deoarece aceasta stă la baza activităţii lor biologice.
2. Structura secundară – reprezintă conformaţia lanţurilor polipeptidice.
3.

Scanned with OKEN Scanner

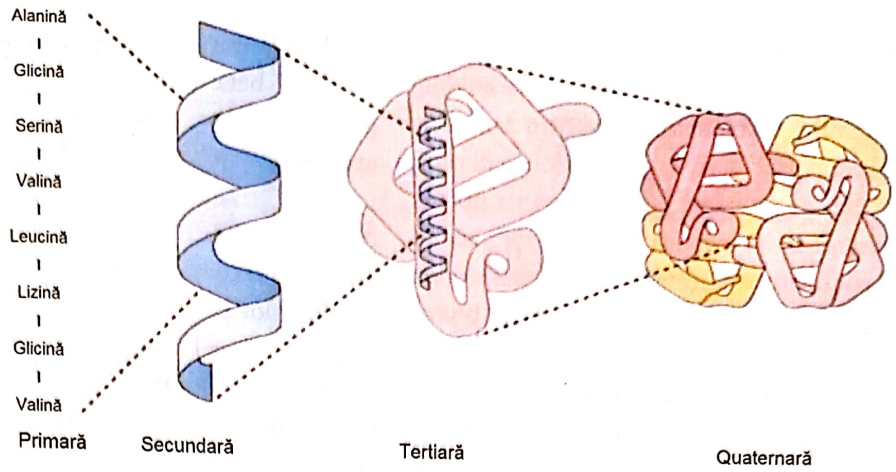


Figura 3.1 *Proteinele prezintă patru nivele de organizare structurală, organizare care dictează și funcțiile acestora: structura primară, secundară, terțiară și cuaternară. Figura exemplifică molecula de hemoglobină.*

Termenul de conformație se referă la poziția relativă în spațiu a fiecărui atom constituent al moleculei.

Un lanț polipeptidic adoptă, în măsură în care îi permite structura sa primară, mai multe configurații:

- modelul α-helix,
- modelul în „foaie pliată",

Aceste modele se caracterizează prin regiuni repetitive formate prin legături de hidrogen între atomii legăturilor peptidice, și regiuni non-repetitive (bucle, pliuri). Rezultatul este o structură rigidăși compactă.

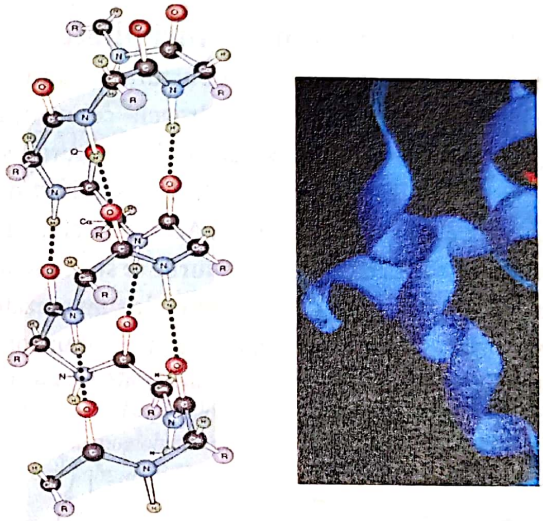


Figura 3.2 *Modelul alfa helix este prezent atât la proteinele fibrilare cât și la cele globulare. Structura este stabilizată prin legături de hidrogen între oxigenul carbonilic al unui aminoacid și hidrogenul amidic (N-H) al unui rest de aminoacid localizat la patru reziduuri distanță (imagine stânga). (modificat după Mark's, 2008)*

Modelul alfa helix

Este este prezent în diferite procente atât la proteinele fibrilare cât și la cele globulare. Este un model rigid, conformația fiind stabilizată prin legături de hidrogen între oxigenul carbonilic al unui aminoacid și hidrogenul amidic (N-H) al unui rest de aminoacid localizat la patru reziduuri distanță (Fig. 3.2). Radicalii resturilor de aminoacizi (R) sunt dispuși alternativ deasupra și sub planul helixului (Fig. 3.3).

Nu toți aminoacizii favorizează formarea α-helixului, un exemplu îl constituie prolina. Este un aminoacid care destabilizează alfa helixul, deoarece atomul de azot este conținut în nucleul imidazolic și nu poate forma legături de hidrogen cu atomii învecinați. Din acest motiv prolina nu se găsește în regiunile alfa helicoidale ale proteinelor.

Caracteristicile alfa helix-ului :

- Este stabilizat prin legături de hidrogen inter-reziduu,
- Fiecare legătură peptidică participă la legătura de hidrogen aceasta conferind maxim de stabilitate,
- O proteină cu o proporție de alfa helix de aproape 100% este keratină (păr, unghii și piele)
- Un alfa helix se formează spontan, fiind conformația cea mai stabilă și cu cea mai joasă energie a unui lanț polipeptidic
- Alte proteine importante, hemoglobina și mioglobina, au 70% structură secundară alfa.

Scanned with OKEN Scanner

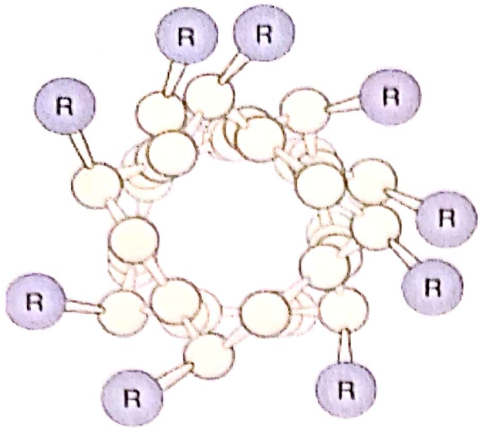


Figura 3.3 *Distributia radicalilor de la aminoacizi, R, alternativ deasupra și sub planul helixului (după Mark's, 2008)*

Conformația beta în planuri pliate

Este cel de al 2-lea tip de structură secundară stabilizată prin legături de hidrogen ce mențin unghiurile de torsiune. În acest model legăturile se realizează între catenele polipeptidice care sunt dispuse paralel una față de cealaltă. Acest model diferă de modelul alfa helix în care legăturile se stabilesc în cadrul aceleiași catene. Catenele laterale sunt asezate deasupra sau sub planurile în zig zag ale planurilor pliate (Fig. 3.4).

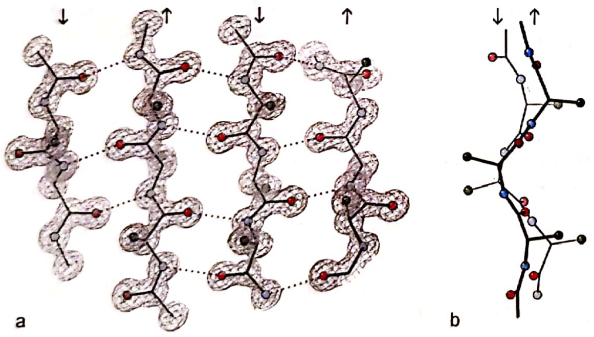


Figura 3.4 *În conformația beta legăturile de hidrogen sunt aranjate anti-paralel (punctate; atomii de oxigen sunt roșii și cei de azot, albaștri). În imaginea din dreapta este ilustrat anti-paralelismul celor două lanțuri proteice. Imaginea reprezintă enzima catalaza.*

Conformația beta pliată, prezintă două variante în care:

- catenele polipeptidice sunt dispuse **paralel** – dacă lanțurile polipeptidice au aceeași direcție, având ca reper capetele amino și carboxiterminale;
- catenele polipeptidice sunt dispuse **antiparalel** – dacă lanturile polipeptidice au orientare diferită.

Modelul beta este întâlnit frecvent la proteinele globulare. De exemplu, imunoglobulinele prezintă aranjament spațial predominant tip beta.

Structura terțiară

Structura terțiară se referă la aranjamentul spațial al reziduurilor de aminoacizi și constă în replierea în spațiu a catenelor helicoidale într-o formă stabilă, compactă. Structura terțiară se realizează prin următoarele tipuri de legături ce se stabilesc între radicalii aminoacizilor: legături de hidrogen, legături ionice slabe (între radicali încărcați negativ), interacțiuni hidrofobe (între resturile aminoacizilor nepolari) (Fig. 3.5A).

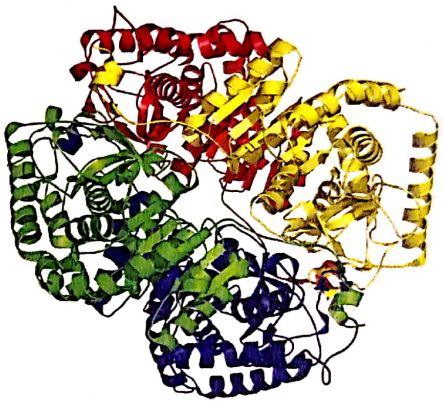


Figura 3.5 *(A) Structura terțiară este menținută de legături de hidrogen, legături ionice precum și de interacțiuni hidrofobe între resturile aminoacizilor nepolari. (Adaptare după Wikipedia).*

Aici a fost descrisă pentru prima dată noțiunea de "domeniu", o regiune independentă, bine definită ca structură și funcție. În cazul enzimelor, este regiunea care leagă substratul și este ușor de recunoscut. Această regiune este ușor de identificat privind structura tridimensională a proteinei (vezi structura lactatdehidrogenazei, Fig. 3.5B) unde domeniul este locul de legare al nucleotidului NAD^+.

Fiecare domeniu este alcătuit dintr-o secvență specificăde aminoacizi din lanțul polipeptidic ce se pliază în spațiu independent de restul proteinei. Două domenii sunt legate între ele prin structuri simple (bucla), porțiuni de lant mai puțin organizat ce permite mișcarea domeniilor unul fața de celălalt.

Scanned with OKEN Scanner

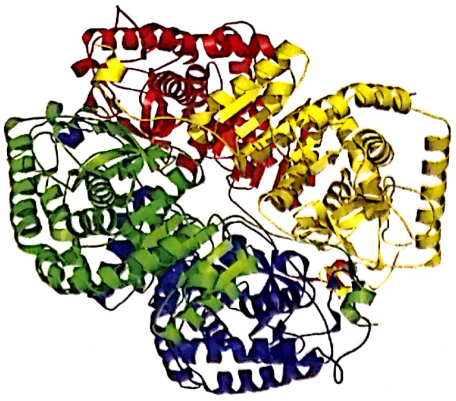


Figura 3.5 *(B) Structura terțiară - aranjamentul spațial al reziduurilor de aminoacizi constă în replierea în spațiu a catenelor helicoidale într-o formă stabilă, compactă (adaptare după Wikipedia).*

Structura Cuaternară

Structura cuaternară a unei proteine se referă la asocierea subunităților polipeptidice individuale într-o manieră geometrică specifică. Multe proteine își îndeplinesc rolul lor funcțional ca dimeri, tetrameri sau oligomeri. Acestea sunt proteine în care două, trei sau mai multe subunități sunt combinate în vederea formării unei proteine funcționale. Subunitățile unei anumite proteine se combină mereu în același mod, acest lucru fiind dictat de structura tertiară care la rândul ei este dependentă de structura primară dictată de codul genetic.Prefixul: homo- sau hetero-, este utilizat pentru a descrie subunități identice sau diferite. Un protomer este o unitate structurală alcătuită din subunități neidentice. Asamblarea protomerilor într-o structură multisubunitară asigură un grad înalt de precizie și specificitate a structurilor cuaternare, prin creșterea dimensiunii crescând și numărul interacțiunilor posibile dintre reziduurile de aminoacizi. Un alt avantaj al acestei organizări este posibilitatea de cooperare dintre subunități în legarea ligandului (ex. hemoglobina) sau posibilitatea de a forma situsuri de legătură cu afinitate mare pentru molecule mari (ex. imunoglobulinele).Astfel proteinele sunt molecule capabile de tranziții discrete și reversibile. Aceste tranziții conferă proteinei proprietăți noi și se numesc tranziții allosterice.

Relația structură-funcție pentru hemoglobină

Structura proteinelor determină funcția acestora în organism: hemoglobina (transportă oxigenul), anticorpii (reacționează cu antigene pentru a combate infecțiile), colagenul (conferă rezistență multor structuri ale organismului). Hemoglobina și mioglobina sunt două proteine care leagă oxigenul, cu structură primară asemănătoare. Mioglobina este o proteina globulară alcătuită dintr-un singur lanțși are un singur situs de legare al O_2, iar hemoglobina este un tetramer alcătuit din 2 tipuri diferite de subunități (2alfa, 2beta), fiecare dintre subunități având homologie structurală cu mioglobina (Fig. 3.6). Comparația între mioglobină și hemoglobină pune în evidență avantajele structurii cuaternare ce cuprinde mai multe subunități. Astfel, structura tetramerică a hemoglobinei facilitează saturarea cu oxigen la nivelul plămânilor și eliberarea oxigenului la trecerea prin patul capilar. Saturația cu oxigen a mioglobinei este mult mai mică.

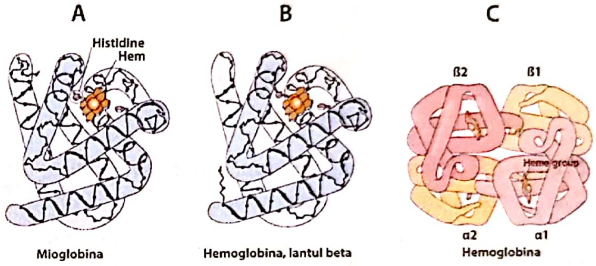


Figura 3.6 *Mioglobina este o proteina globulară alcătuită dintr-un singur lanțde globină și are un singur situs de legare al O2, iar hemoglobina este un tetramer alcătuit din 2 tipuri diferite de subunități (2alfa, 2beta) de globină.*

Relația structură- funcție pentru imunoglobuline

Imunoglobulinele (anticorpii) sunt proteine cu rol de apărare împotriva microorganismelor (bacterii, virusuri, paraziți) care invadează organismul. Funcția principală a unei imunoglobuline este aceea de a recunoaște și a se combină cu antigenul (ligand) formând complexul antigen-anticorp. Imunoglobulinele au o structură similară alcătuită din 2 lanțuri mici de polipeptide identice (L, light) și 2 lanțuri polipeptidice mari (H sau heavy), sunt tetrameri H2L2. Aceste lanțuri sunt legate între ele prin punți disulfurice S-S (Fig.3.7).

În organismul uman se cunosc 5 clase majore de imunoglobuline: IgA, IgG, IgD, IgM, IgE. Cele mai abundente sunt gama-globulinele ce aparțin clasei IgG. Molecula unei imunoglobuline are forma literei Y, lanțurile L și H se asociază începând cu capetele lor N-terminale și formează brațele literei Y. Cele 2 jumătăți C-terminale ale lanțurilor H alcătuiesc coada moleculei.

Scanned with OKEN Scanner

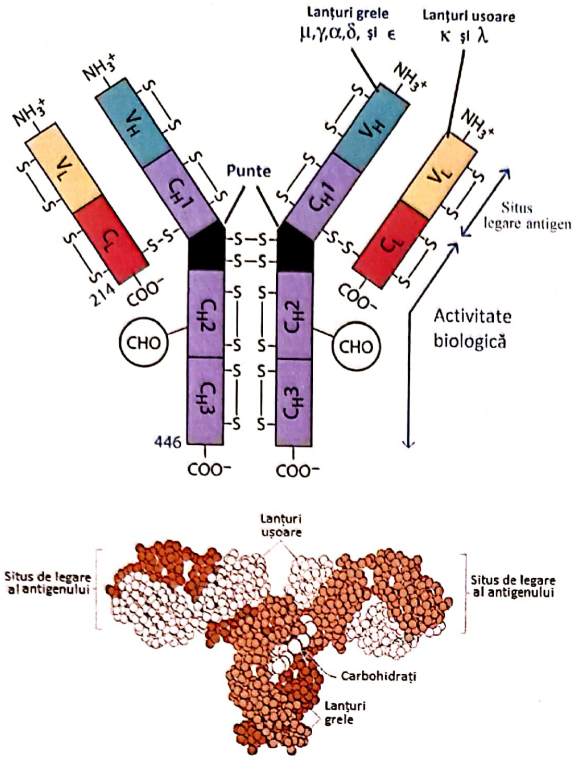


Figura 3.7 *Imunoglobulinele sunt tetrameri compuși din 2 lanțuri tip L (light) și 2 lanțuri polipeptidice tip H (heavy), H2L2. Aceste lanțuri sunt legate între ele prin punți disulfurice S-S (A). Imaginea B indică modelul în spațiu al unui agregat imunoglobulinic.*

Între lanțuri există numeroase punți disulfurice. Lanțurile L conțin 2 domenii: un domeniu variabil (VL) și o regiune cu o secvență constantă de aminoacizi (CL). Lanțurile H conțin 4 domenii: 1 domeniu variabil (VH) și 3 regiuni constante (CH). Conformația specifică domeniilor constante este conformația beta în planuri pliate. Domeniile variabile sunt situsurile de legare ale antigenului iar domeniile constante ce formează partea Fc a imunoglobulinei sunt responsabile de legarea complexului antigen-anticorp la macrofage.

Relația structură- funcție pentru fibra musculară

Troponina este o proteină cu structură heterotrimerică ce se găsește la nivelul miocardului și contribuie la reglarea contracției cardiace. Cele trei subunități sunt reprezentate de: troponina C, troponina-T și troponina I, fiecare cu o funcție specifică în procesul de reglare a contracției musculare (Fig. 3.8). Datorită formării anticorpilor anti-troponină T și anti-troponină I, acestea pot fi măsurate în sânge cu un grad mare de specificitate, în cazul infarctului miocardic.

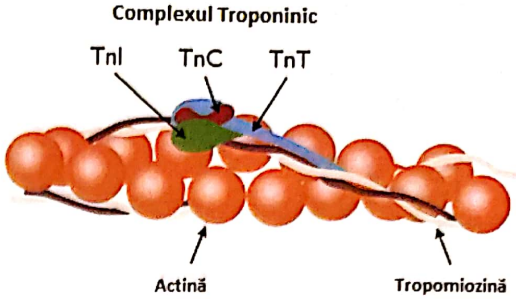


Figura 3.8 *Troponina este o proteină cu structură heterotrimericădin miocard. Cele trei subunități sunt reprezentate de: troponina C, troponina-T și troponina I.*

Relația structură- funcție pentru colagen

Colagenul reprezintă o proteină structurală prezentă în cantități mari la toate animalele. La oameni, colagenul reprezintă o treime din proteinele totale, trei sferturi din reziduu uscat al pielii și este componenta predominantă a matricei extracelulare.

Au fost identificate 28 de tipuri diferite de colagen formate din cel puțin 46 de lanțuri polipeptidice disticte. Colagenul face parte din grupul moleculelor matricei extracelulare care au ca element comun structura de triplu helix.

La animalele mari există cel puțin 19 tipuri distincte de colagen care au acest element structural comun, dar diferă ca structură și funcție. Triplul helix reprezintă unitatea structurală de bază pentru formarea fibrilelor și stabilitatea structurală, dar triplul helix interacționează cu molecule cu roluri importante în organizarea și funcționarea matricei extracelulare. Triplul helix a fost evidențiat și la nivelul altor proteine cum ar fi cele implicate în răspunsul imun.

Secvența de aminoacizi prezintă două caractere unice: (1) glicina este prezentă la fiecare trei reziduuri de aminoacizi, generând secvențe repetitive (Gly-X-Y) și (2) un procent mare din reziduuri (aproximativ 20%) sunt reprezentate de iminoacizi cum ar fi prolina și hidroxiprolina (Fig. 3.9).

Hidroxilarea rezidurilor de prolină din poziția Yaa a colagenului crește stabilitatea termică a triplu helixului (Fig 3.10).

Scanned with OKEN Scanner

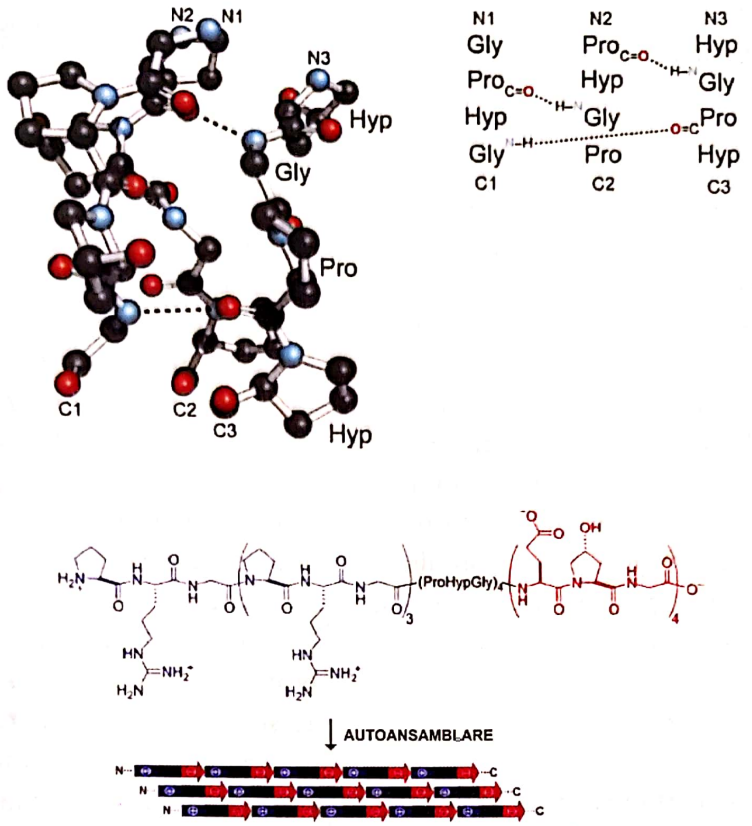


Figura 3.9. *Structura colagenului. (A) Structura 3D a colagenului format din 3 lanțuri helicoidale. tri-dimensională (adaptare după Protein Data Bank). (B) Legăturile dehidrogen care stabilizează lanțurile proteice.*

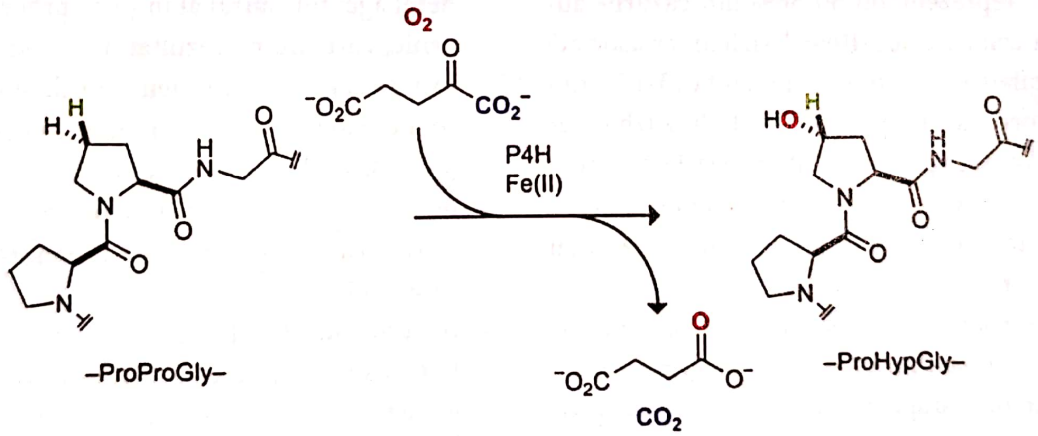


Figura 3.10. *Hidroxilarea aminoacizilor prolina din structura colagenului de către prolil 4-hidroxilaza.*

Natura ierarhică a structurii colagenului permite evaluarea proprietăților mecanice ale colagenului, la diferite nivele de complexitate structurală, incluiv monomeri TC, fibrile individuale de colagen și fibre de colagen. Moleculele de colagen se asociază formând forma finală de colagen care se găsește în țesuturi. Cel mai frecvent tip de colagen prezent la nivelul tendoanelor, pielii și altor țesuturi conjunctive, este format din fibrile periodice de tip D.

Patobiochimie

Bolile cauzate de schimbările în structura proteinelor pot afecta abilitatea proteinelor de a lega alte molecule și în consecință de aşi exercita funcția. Schimbări în structura proteinelor pot de asemenea afecta solubilitatea și degradabilitatea acestora.

Scanned with OKEN Scanner

Alterarea Conformației Proteinelor în Bolile Neurodegenerative

Există un număr relativ mare de boli ce sunt caracterizate prin depunere de agregate proteice numite generic "amiloid". În fiecare dintre aceste boli agregatele proteice sunt numite generic "amiloid" și derivă din proteine diferite care au suferit modificări în conformație. Odată ce a început depunerea de amiloid aceasta pare să progreseze rapid, fibrele formate favorizând depunerea altor fibre. De exemplu, în biopsia renală utilizată în diagnosticul unui pacient cu *amiloidoză*, s-a evidențiat prezența unor depozite amorfe la nivelul glomerulilor, alcătuite din structuri fibrilare de amiloid. Acestea sunt alcătuite din planuri beta pliate, repetitive, orientate perpendicular pe axul fibrelor. Diferențele în manifestările clinice sunt date atît de funcția proteinei native cît și de locul de depunere al agregatelor/plăcilor de amiloid.

Boala Alzheimer

La nivel mondial peste 35 de milioane de oameni, suferă de boala Alzheimer care se manifestă prin deteriorarea memoriei și alte deficite cognitive - determinând decesul acestora între 3-9 ani de la diagnostic. Boala Alzheimer este cea mai frecventă formă de demență, reprezentând 50-56% din cazurile autopsiate și a celor clinice. Boala Alzheimer asociată cu boala capilarelor cerebrale reprezintă 13-17% din cazuri. Factorul de risc principal al bolii Alzheimer este vârsta. Incidența bolii se dublează la fiecare 5 ani după vârsta de 65 de ani, cu diagnosticarea a 1275 de cazuri noi pe an la 100.000 de pacienți cu vârsta mai mare de 65 de ani.

Date de la persoane care au împlinit 100 de ani, evidențiază că probabilitatea de a fi diagnosticat cu boală Alzeheimer după 85 de ani depășește proporția de 1 la 3.

O dată cu creșterea ponderei populației vârstnice, prevalența bolii Alzheimer va atinge până la mijlocul secolului circa 30 milioane de cazuri.

Au fost evidențiate multe modificări moleculare în boala Alzheimer. Concluzia acestor studii este că acumularea proteinelor cu erori de pliere la nivelul creierului îmbătrânit determină apariția plăcilor de amiloid si un răspuns inflamator, care împreună, afectează energetica celulare și disfuncția sinaptică.

Mecanismul formării agregatelor amiloidice din boala Alzheimer

- *Ipoteza amiloidică:* Celula nervoasă nu este statică. Componentele proteice sunt sintetizate și degradate în mod continuu asigurând astfel vitalitatea celulelor și evitând îmbătrânirea prematură. Defecte în acest ciclu de viață al unei proteine poate duce la agregarea proteinelor cu aparitia corpilor de incluziune care sunt de regulă citotoxici (Fig. 3.11).

  Proteina precursoare a β-amiloidului *(Amyloid Precursor Protein, APP)* este o proteină transmembranară de tip I, care în urma clivării secvențiale în prezența β și γ- secretazei, determină apariția β-amiloidului care se depozitează la nivel cerebral sub forma plăcilor amiloidice (Fig. 3.12). Y- secretaza este un complex proteolitic care scindează domeniul transmembranar al proteinei precursoare a amiloidului până când acesta este suficient de redus pentru a permite eliberarea β-amiloidului din membrană. În urma clivajului sub acțiunea γ- secretazei rezultă peptide care diferă la capătul carboxi-terminal. Principalul peptid este Aβ-40 și în cantități mai mici Aβ-38 și Aβ-42. Aβ-42 este un peptid neurotoxic care poate agrega ușor fiind considerat agentul cauzal al inițierii procesului patogenic, care are ca rezultat alterarea sinapselor, formarea ghemurilor neurofibrilare și a plăcilor senile și în final cauzează moartea neuronală. În plus, agregatele Aß-42 sunt rezistente procesului proteolitic de degradare responsabil de reciclarea sistematică a tuturor proteinelor celulare (Fig. 3.11).
- *Ipoteza "taoista"*: Proteina Tau este o fosfoproteină asociată microtubulilor localizată la nivel axonal, care are rol în stabilizarea citoscheletului neuronal și transportul axonal. Fosforilarea corectă a proteinei Tau necesită un echilibru între kinaze și fosfataze. Hiperactivitatea sistemului kinazic determină hiperfosforilarea proteinei Tau și producerea excesivă a β-amiloidului. Apariția proteinei Tau hiperfosforilate determină de asemenea alterarea transportului axonal și destabilizarea citoscheletului cu apariția agregatelor neurofibrilare (Fig. 3.13) care sunt citotoxice, producând tulburări cognitive.

Scanned with OKEN Scanner

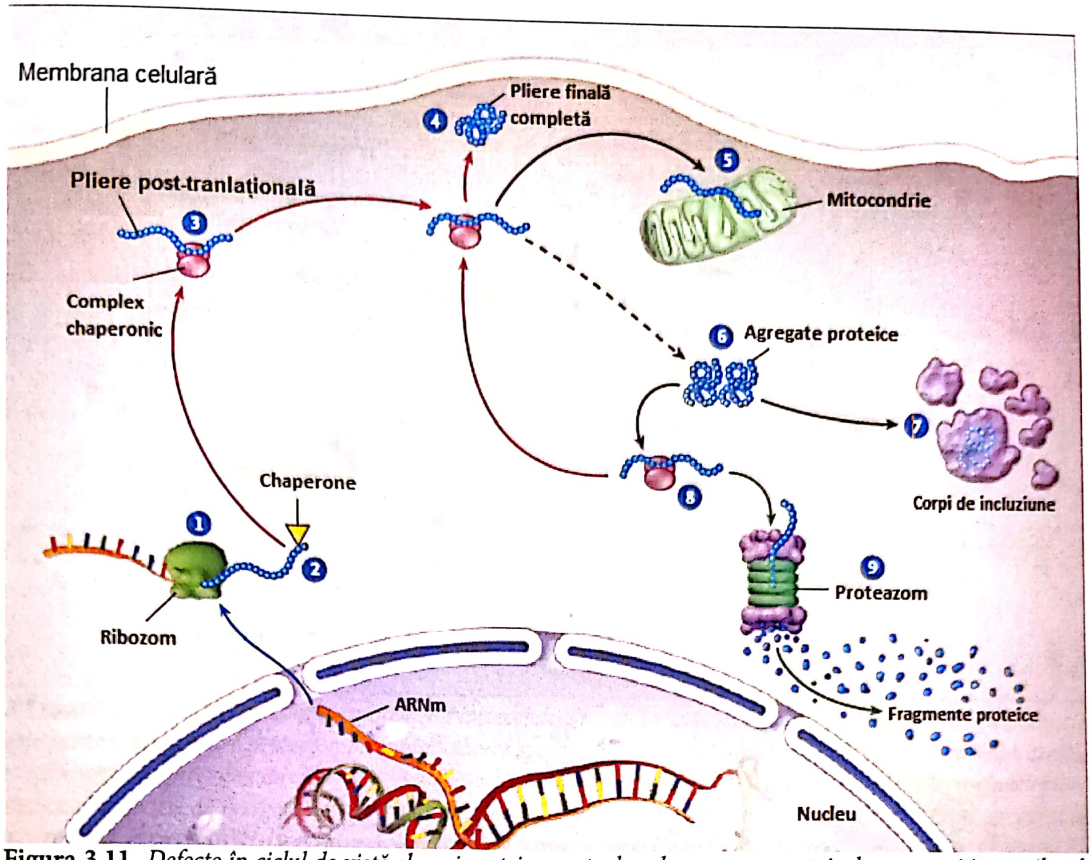


Figura 3.11. *Defecte în ciclul de viață al unei proteine poate duce la agregarea proteinelor cu apariția corpilor de incluziune care sunt de regulă citotoxici. (Adaptat după NEJM, 362: 330-336, 2010).*

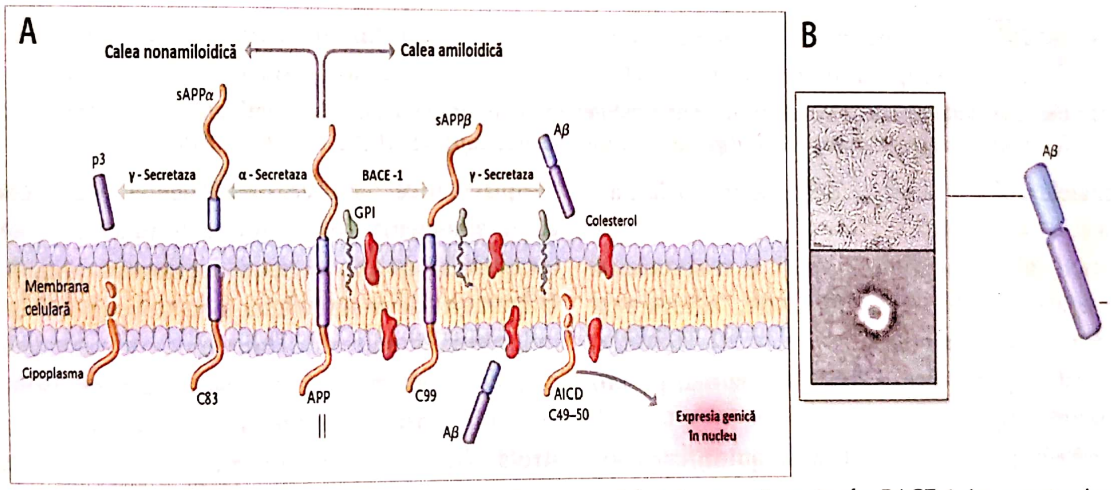


Fig. 3.12 *Procesarea proteolitică a β APP poate duce la agregate A beta în prezența enzimelor BACE-1 și γ- secretazei sau la un produs normal în prezența enzimelor α-și β-secretaza. O protofibrilă A beta este arătată schematic, la microscopul electronic precum și în secțiune transversală – configurație sectorială (Adaptat după NEJM, 362: 330-336,2010).*

Boala Parkinson

Boala Parkinson este a doua boală neurodegenerativă ca frecvență după Alzheimer cu o etiologie multifactorială, existând însă și forme familiale (5-10 % din cazuri). Neurodegenerarea în boala Parkinson se caracterizează prin degenerarea si pierderea neuronilor dopaminergici din substanța neagră, *pars compacta* ce duce la alterarea circuitelor dopaminergice din ganglionii bazali și cortex.

Semnificativ pentru boala Parkinson este prezența în neuronii dopaminergici a corpilor Lewy formați prin acumularea intracelulară a unor agregate proteice dintre care cea mai importantă proteină este α-synucleina. Apariția bolii Parkinson este consecința interacțiunii dintre factori genetici și factorii de mediu. scrise în boala Parkinson sunt:

Scanned with OKEN Scanner

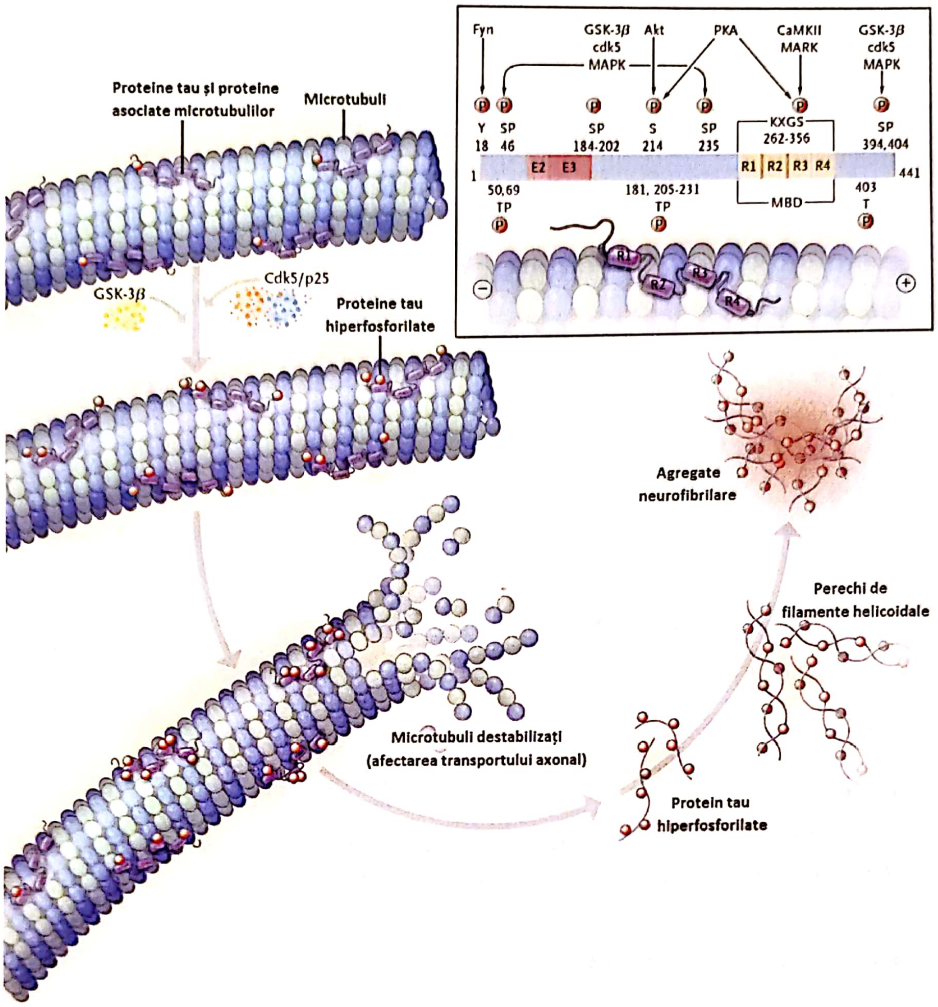


Fig. 3.13 *Proteina Tau hiperfosforilată determină alterarea transportului axonal și destabilizarea citoscheletului cu apariția agregatelor neurofibrilare neurotoxice. (Adaptat după NEJM, 362: 330-336, 2010).*

Principalele defecte genetice descrise în boala Parkinson sunt:

1. mutații ale genei care codifica α-sinucleina cu apariția unor erori de pliere, agregare și depozitare ale α-sinucleinei
2. mutații in gena care codifica o enzima, parkin (ubiquitin-ligaza)
3. mutații în gena care codifica ubiquitin carboxi-terminal hidrolaza
4. mutații ale oncogenei DJ-1
5. mutații în gena care codifică o protein-kinaza mitocondrială

Gena SNCA codifică o proteină formantă din 140 de aminoacizi, numită **α-sinucleina**, care aparține clasei de proteine sinucleine împreună cu β și γ-sinucleina. Cele trei proteine sunt localizate la nivelul membranei presinaptice neuronale, α-sinucleina fiind prezentă în cantitate mare in sistemului nervos central reprezentând 1% din totalul proteinelor citoplasmatice. Supraexpresia genei care codifică α sinucleina determină acumularea proteinei intracelular cu rol în neurodegenerare (Fig. 3.14). Oligomerii de α-sinucleina s-au dovedit a fi toxici, inducând eliberarea de dopamină din veziculele sinaptice în citoplasmă cu afectarea proteosomului 26S. Eliberarea de dopamină intracelular induce stress oxidativ la nivelul neuronilor dopaminergici. Disfuncția mitocondrială amplifică agregarea α-sinucleinei și împiedică sinteza de ATP, ceea ce determină scăderea activității proteosomului 26S care este dependenta de prezența ATP.

Gena care codifică proteina parkin are rol enzimatic important, fiind o ubiquitin ligază de tip E3 a sistemului ubiquitin-proteazomic. Sistemul ubiquitin-proteazomic conține trei astfel de tipuri de enzime :

Scanned with OKEN Scanner

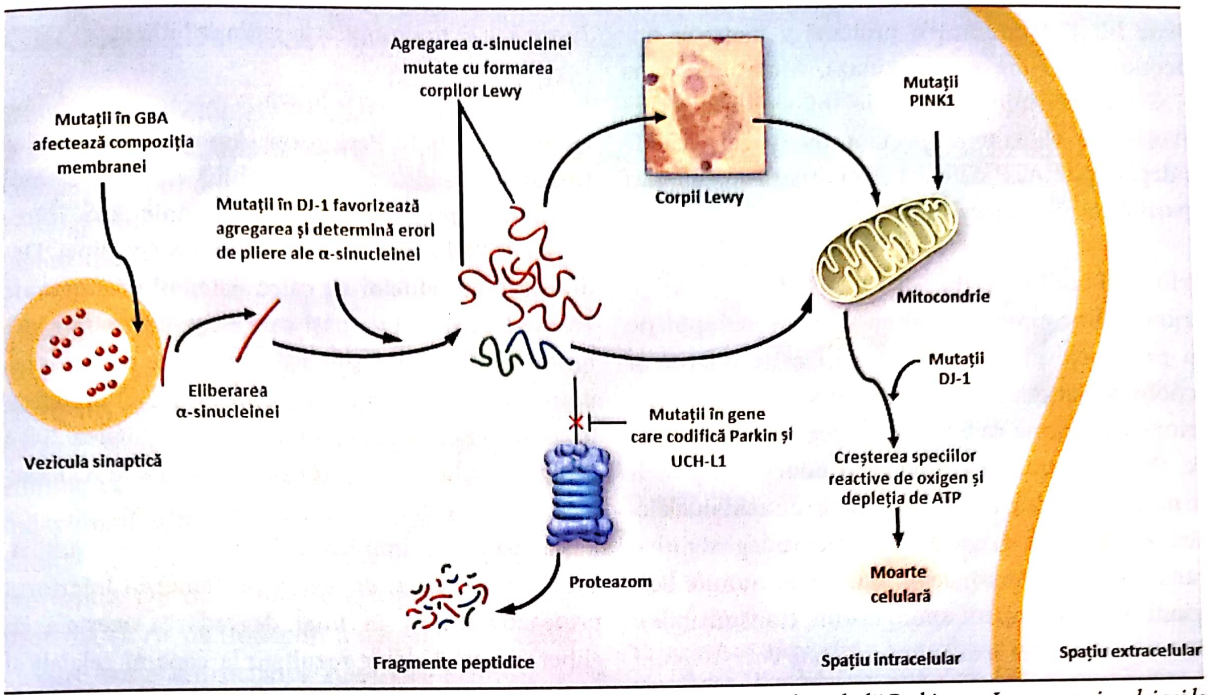


Fig. 3.14 *Model ipotetic de interacțiune a proteinelor intracelulare implicate în etiologia bolii Parkinson. Legarea α-sinucleinei la lipide membranare are un efect protector, prevenind plierea greșită și agregarea α-sinucleinei. Mutații în gena GBA care codifică o glucocerebrozidază, determină modificarea compoziției lipidelor membranare care favorizează eliberarea α-sinucleinei intracitoplasmatice și formarea de agregate Lewy. Mutații în gena DJ-1 favorizează erori de pliere a α-sinucleinei și agregarea acesteia în timp ce mutații în gena UCH-L1 afectează procesarea proteinelor pe calea ubiquitin proteozomică. Mutații în gena PINK-1, determină disfuncție mitocondrială care favorizează eliberarea speciilor de oxigen reactiv și apariția corpilor Lewy. (Adaptat dupa NEJM 351: 19, 2004).*

1. E1- enzima de activare a ubiquitinei
2. E2 -enzima de conjugare a ubiquitinei
3. E 3- enzima ubiquitin ligaza

Sistemul ubiquitin-proteazomic este un sistem proteolitic intracelular responsabil de progresia în ciclul celular, cascada de semnalizare, sistemul de control al calității proteice, repararea ADN, apoptoză, transcripția, căi de semnalizare, neurodegenerare. Ubiquitin ligaza E3 transferă moleculele de ubiquitina pe proteinele target formând un lanț poliubiquitinic care este recunoscut de proteosomul 26S ca semnal proteolitic.

Gena UCH-L1 codifică ubiquitin carboxiterminal hidrolaza, o proteină cu rol enzimatic care hidrolizează peptidele carboxi terminale din lanțul poli-ubiquitinic si are rol în reciclare ubiquitinei legată de proteine sub acțiunea ubiquitin ligazei. Mutații la acest nivel afectează procesarea proteinelor pe calea ubiquitin proteozomică.

Mutații în gena *Parkin* determină apariția defectelor la nivelul sistemului ubiquitin-proteazomic, care determină erori de pliere, agregare și depozitare de α-sinucleină.

Mutații în gena *α-sinucleină* determină erori de pliere, agregare și depozitare de α-sinucleină care vor avea ca efect moartea neuronală. Disfuncția mitocondrială are ca efect stresul oxidativ care induce moartea neuronală. Mutații în gena GBA care codifică o glucocerebrozidază, determină modificarea compoziției membranare cu eliberarea α-sinucleinei.

Gena DJ-1 codifică o proteină cu acțiune puternic antioxidantă, ceea ce a dus la concluzia că ar putea fi implicată în răspunsul la stressul oxidativ. Mutații în gena DJ-1 favorizează erori de pliere a α-sinucleinei și agregarea acesteia sub forma unor incluziuni citoplasmatice concentrice, eozinofile, cu halou periferic clar și miez dens, formați din α-sinucleină și ubiquitină, numite corpi Lewy, și rezultă moartea celulară.

Scanned with OKEN Scanner

Gena PINK-1 codifică o proteină a matricei mitocondriale și are rol de kinază. Mutații în gena PINK-1, determină disfuncție mitocondrială care favorizează eliberarea speciilor de oxigen reactiv și depleția de ATP cu efect final moartea celulară și apariția corpilor Lewy.

Prionii si bolile prionice

Prionii sunt proteine ce au aceeași compoziție cu proteinele normale dar conformație diferită și acționează ca matriță pentru plierea altor proteine prionice în forme care nu pot fi degradate proteolitic. Prionii sunt agenți infecțioși nonconvenționali de natură proteică, lipsiți de orice tip de acid nucleic, care produc un grup de boli neurodegenerative transmisibile ale animalelor și omului, numite boli prionice (encefalopatii spongiforme transmisibile). Dintre acestea, cea mai cunoscută este *encefalopatia spongiformă bovină (boala vacii nebune)*, darexistă forme de encefalopatie spongiformă și la alte specii de animale: *scrapia* (la ovine și caprine), *encefalopatia spongiformă a cervidelor* etc. Din categoria bolilor prionice ale omului fac parte: *boala Creutzfeldt-Jacob, insomnia fatală familială, boala Kuru, sindromul Alpers* (la copil) etc.

Etiologia bolii prionice prezintă mecanisme comune cu etiologia bolii Parkinson. Agregate solubile dar toxice de proteine prionice, inhibă selectiv sistemul de degradare proteolitic proteazomic 26S întrerupând astfel ciclul de viață normal al proteinei. Dedradarea proteinelor de către sistemul proteazomic 26S se face în câțiva pași care necesită energie sub formă de ATP. Unul din acești pași este deschiderea unui canal care permite accesul proteinei ubiquitate ce urmează să fie degradată, la subunitatea 20S a proteazomului prin hidroliza ATP de către ATPaza.

Pașii următori implică eliberarea de ubiquitină, care este reciclată, deplierea proteinei în interiorul proteazomului și în final degradarea acesteia cu eliberarea peptidelor rezultate la capatul celalalt al tunelului degradativ proteazomic 26S. În cazul bolilor prionice, deschiderea tunelului degradativ proteazomic este împiedicată prin blocarea ATP azei de către proteina prionică ubiquitinată care blochează furnizarea energiei prin inhibiția enzimei ATPaza (Fig. 3.15).

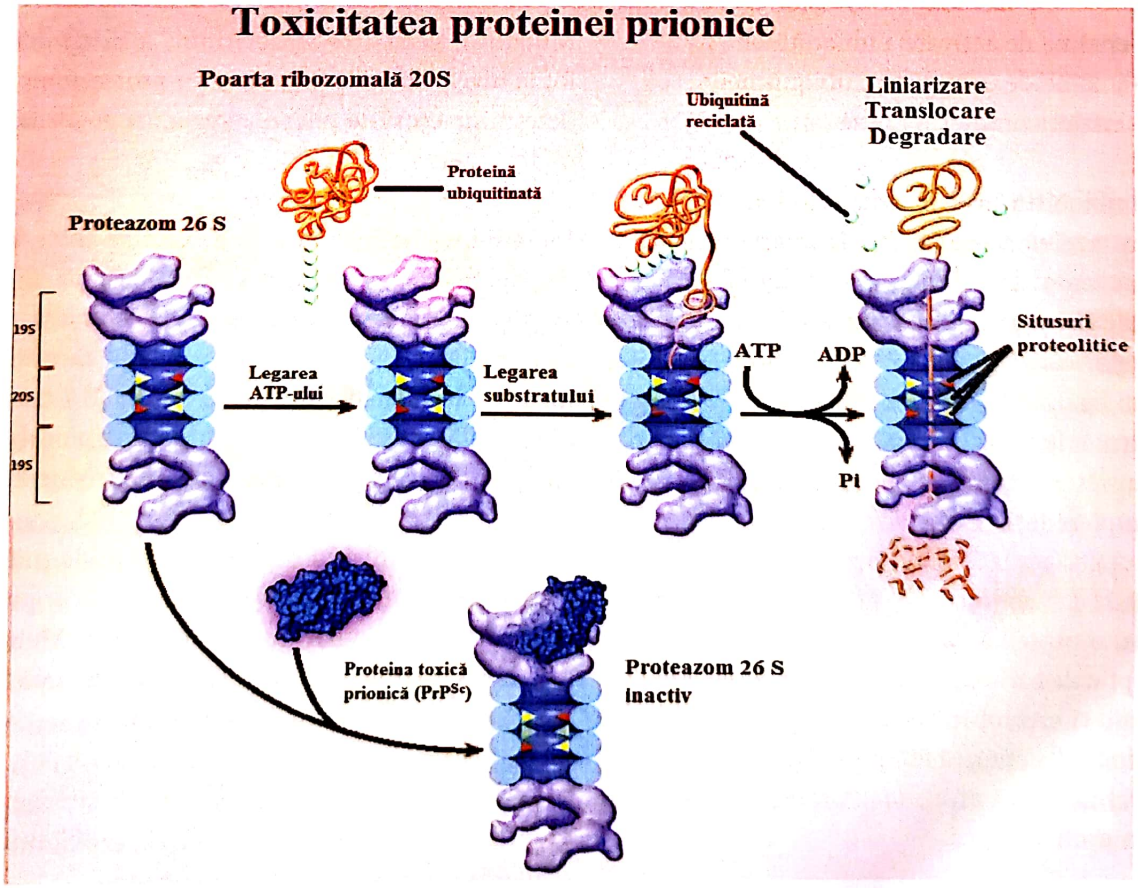


Fig. 3.15 *În cazul bolilor prionice, deschiderea tunelului degradativ proteazomic este împiedicată prin blocarea ATPazei de către proteina prionică ubiquitinată care blochează furnizarea energiei prin inhibiția enzimei ATPaza (Adaptat după NEJM, 2004).*

Scanned with OKEN Scanner

CROMOPROTEINE

Sunt proteine complexe ce conţin hem, o grupare prostetică. Din această categorie fac parte o serie de compuşi importanţi pentru organism, şi anume: hemoglobina, mioglobina, citocromii, catalaze, per-oxidaze etc.

Hemoglobina

Este o cromoproteină prezentă exclusiv în eritrocite, celule din sânge care sunt responsabile de furniza-rea oxigenului necesar ţesuturilor şi de eliminarea în parte a bioxidului de carbon, îndeplinind astfel un rol fiziologic important şi anume – funcţia respi-ratorie. Hemoglobina reprezintă 1/3 din volumul eritrocitului şi este o proteină cu rol de transport a oxigenului şi conferă culoare roşie eritrocitelor (globulelor roşii).

Ca structură Hb este o proteină complexă alcatuită din două componente:

- o componentă proteică: *globina*
- o componentă prostetică: *hem-ul* (pigmentul roşu).

Hem-ul din hemoglobină

Este alcătuit din protoporfirina IX şi fier. Protoporfirina IX este alcătuită din patru nuclee pirolice legate între ele prin patru punţi metilenice, atomul de fier fiind situat în centrul nucleului porfirinic. Fierul se găseşte în hemoglobină sub formă bivalentă (Fe^{2+}; fier feros). Fierul este legat prin patru legături coordinative la azotul nucleului pirolic şi prin alte 2 legături la componenta proteică a hemoglobinei. Datorită proprietăţii sale de a se lega reversibil la oxigen, hem-ul este partea activă din punct de vedere fiziologic (Fig. 3.16).

Hemoglobina este un tetramer alcătuit din patru lanturi polipeptidice de globină. Cele două perechi de lanţuri diferă între ele prin structura lor primară, adică prin secvenţa şi numărul aminoacizilor constituenţi. Structura globinei diferă, fiind cunoscute mai multe tipuri de lanţuri polipeptidice care intră în alcătuirea hemoglobinei fiziologice: ζ, ε, α, β, γ, δ. Catenele polipeptidice de globină au o structură secundară majoritară de 75% α-helix, întreruptă din loc în loc de regiuni nehelicolidale care permit pliera.

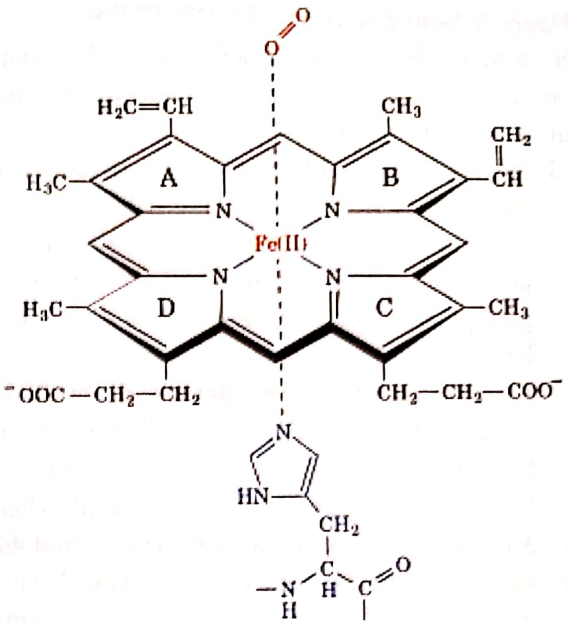


Figura 3.16 *Hem-ul din hemoglobină este alcătuit din protoporfirina IX şi fier legat prin patru legături coordinative la azotul nucleului pirolic şi prin alte 2 legături la componenta proteică a hemoglobinei.*

Legarea hemului de globina se face prin intermediul histidinei din poziţia 92 şi 63 din lanţurile β şi 87 şi 58 de pe lanţurile α (Fig. 3.17). Inelul imidazolic din poziţiile 92 şi 87 se leagă direct la atomul de fier, celelalte 2 legături se realizează prin intermediul unei molecule de apă, această legătură labilă permitând legarea oxigenului de atomul de Fe^{2+}. Aminoacizii situaţi în regiuni învecinate legăturii dintre hem şi globină sunt invariabili. Modificări survenite la acest nivel duc la alterări importante ale stabilităţii moleculare şi ale proprietăţilor funcţionale ale hemoglobinei.

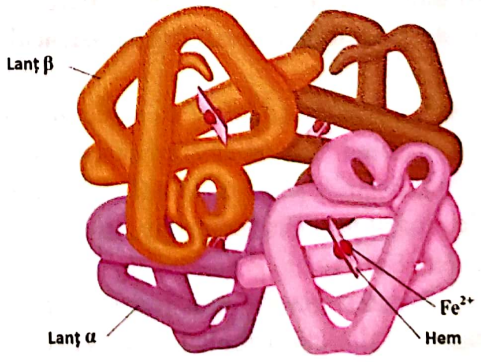


Figura 3.17 *Hemoglobina este un tetramer alcătuit din patru lanturi polipeptidice de globină. Legarea hemului de globină se face prin intermediul histidinei din poziţia 92 şi 63 din lanţurile β şi 87 şi 58 de pe lanţurile α.*

Scanned with OKEN Scanner

Tipuri de hemoglobină

În timpul dezvoltării organismului, din viața embrionară până la adult au fost identificate mai multe tipuri de hemoglobină:

1. Hemoglobinele embrionare: Gower1 (2ζ și 2ε), Portland (2ζ și 2γ), Gower2 (2α și 2ε).
2. Hemoglobina fetală (HbF), înlocuiește hemoglobinele embrionare începând cu luna 3 de gestație. La naștere reprezintă 80% din totalul hemoglobinei.
3. La naștere sinteza hemoglobinei fetale scade rapid ajungând la 2% în primul an de viața. După naștere hemoglobina F este înlocuită rapid de hemoglobina A (A1 si A2) adultă (Fig. 3.18). *Astfel la un adult normal, hemoglobina A1 reprezintă 98%, Hb A2 3%, Hb F sub 1%.*

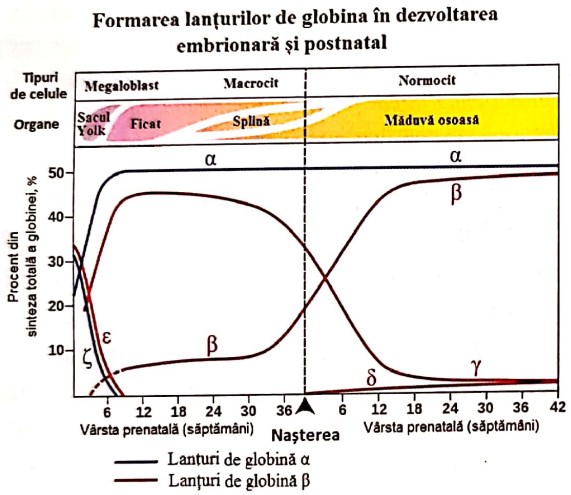


Figura 3.18 *În timpul dezvoltării organismului, din viața embrionară până la adult, au fost identificate mai multe tipuri de hemoglobină: embrionare, fetale si adulte.*

HbA1 (2α 2β) se deosebește de celelalte prin mobilitatea electroforetică, prin afinitatea pentru oxigen și prin timpul de denaturare în mediul bazic sau acid.

HbA2 (2α 2δ) este asemănătoare ca structură cu HbA1, diferența fiind doar de 10 aminoacizi. HbA-2are mobilitate electroforetică mai lentă și de aceea este ușor de separat prin electroforeză.

HbF (2α 2γ) se caracterizează prin rezistență crescută la denaturare alcalină și afinitate crescută pentru oxigen comparativ cu HbA1, de aceea la nivelul placentei oxigenul trece cu ușurință de pe HbA1 din eritrocitele mamei pe HbF din eritrocitele fatului.

Funcțiile hemoglobinei

Funcția principală a hemoglobinei, cea de transportor al gazelor sanguine, este datorată ușurinței cu care leagă oxigenul la nivelul plămânului și îl eliberează la nivelul țesuturilor, unde presiunea parțială a oxigenului este scăzută. Când oxigenul este eliberat, oxihemoglobina (HbO_2) devine hemoglobină redusă (HbA)(Fig. 3.19). Fixarea oxigenului se face la nivelul fierului din structura hemului (histidina din poziția 63 și 58), fiecare atom de fier fixează câte un atom de oxigen cu viteze diferite datorită fenomenului de cooperativitate dintre monomeri. Astfel că legarea oxigenului la unul dintre monomeri, determină schimbări conformaționale care facilitează legarea oxigenului la celelalte unități monomerice. Reacția este deplasată într-un sens sau în celalalt în funcție de presiunea parțială a oxigenului și pH-ul sângelui.

$$Hb(O_2)_nH_x + O_2 \rightleftharpoons Hb(O_2)_{n+1} + xH^+$$

Oxigenul se găsește sub două forme în sânge: (1) dizolvat în plasma și în apa din eritrocite, (2) legat reversibil de hemoglobină (aprox. 98% din totalul de oxigen). Astfel, la o presiune parțială a oxigenului de P_{O2} = 100 mm Hg (în sângele arterial), 100 ml de plasmă conțin 0,3 ml O_2 (sau 0.3 vol%).

Hemoglobina leagă oxigenul în plămân în urma procesului de inspirație și îl cedează la țesuturi în funcție de diferența de presiune parțială de oxigen dintre sângele arterial saturat cu oxigen (pO_2aprox 100 torr) și sângele venos (pO_2aprox 40 torr). Astfel, la presiune parțială de oxigen mică din vecinătatea țesuturilor afinitatea hemoglobinei față de oxigen scade și oxigenul este cedat plasmei. Acest proces este influențat de pH, P_{CO2}, temperatură și 2,3 diphosphoglicerat (2,3 DPG). Astfel, saturația în oxigen maximă este obținută la pH alcalin (mai mare de 7,4) și invers, în mediu acid (pH < 7,4) oxigenul este cedat mai greu (efect Bohr). La presiune de oxigen mare (100 torr în plămân) efectul Bohr dispare (Fig. 3.20).

O creștere de temperatură datorită, de exemplu, intensificării activității musculare, determină o scădere a afinității Hb pentru oxigen și țesutul muscular primește mai mult oxigen în acord cu necesitățile fiziologice.

Scanned with OKEN Scanner

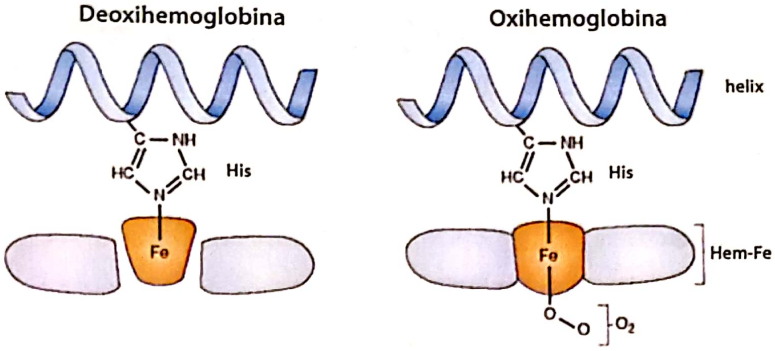


Figura 3.19 *Hemoglobina leagă oxigenul la nivelul plămânului sub forma de oxihemoglobina (HbO2) şi îl eliberează la nivelul ţesuturilor cu formare de hemoglobină redusă (Hb) (adaptat după Mark's, 2008).*

2,3 DPG este un produs al glicozei care modulează afinitatea Hb pentru oxigen printr-un efect allosteric.

Acidifierea mediului eritrocitului determină o scădere a sintezei de [2,3 DPG], şi invers, o alcalinizare a mediului eritrocitului determină o intensificare a sintezei [2,3 DPG] care determină o descreştere a afinităţii hemoglobinei pentru oxigen care eliberează şi oxigenul încă legat în apropierea ţesuturilor.

Acest efect este important mai ales la altitudine în condiţii de hiperventilaţie hipoxică (oxigen rarefiat) care cauzează o sinteză crescută de [2,3 DPG] şi prin urmare permite o utilizare maximă a oxigenului legat de hemoglobină.

O altă funcţie importantă a hemoglobinei este aceea de sistem tampon, în menţinerea echilibrului acido-bazic (HbO_2/Hb), deci a pH-ului sanguin.

Durata de viaţa medie a unui eritrocit este de 120 zile. Hematiile îmbătrânite sunt preluate de sistemul reticuloendotelial şi degradate la hem şi fier care se re-utilizează.

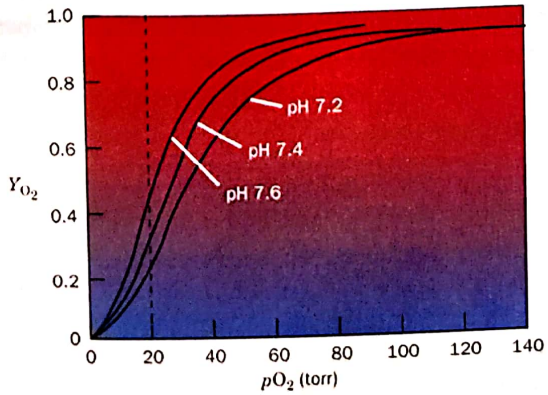


Fig. 3.20 Legarea oxigenului la hemoglobina este influenţată de pH, P_{CO2}, temperatură şi 2,3 diphosphoglicerat (2,3 DPG). y= fracţia de oxigen din plasmă.

Globina este degradată la aminoacizi care se recirculă de asemenea prin intermediul unui pool de aminoacizi (Fig. 3.21)(vezi Metabolismul Proteic).

Compuşi derivaţi de la hemoglobină:

1. Carbohemoglobina- compus rezultat prin legarea bioxidului de carbon la grupările amino libere ale globinei, şi nu la atomul de fier precum oxigenul. Se formează un compus carbo-aminic, forma sub care este transportat bioxidul de carbon la plămâni.

2. Carboxihemoglobina – este rezultatul legării monoxidului de carbon la hemoglobină, *înlocuind astfel oxigenul la situsul de legare*, formându-se un complex ireversibil. Intoxicaţiile cu CO apar chiar la concentraţii mici ale acestuia în aerul inspirat. Intoxicaţia uşoară este caracterizată prin cefalee, iritabilitate, stare de confuzie, la concentraţii mai mari convulsii, comă, tulburări respiratorii şi moarte. Carboxihemoglobina determină o coloraţie roşie purpurie a tegumentelor şi a mucoaselor.

3. Methemoglobina – este rezultată prin transformarea fierului bivalent în fier trivalent de către o serie de compuşii precum nitraţii. Această formă a hemoglobinei nu poate lega reversibil oxigenul, acesta neputând fi cedat către ţesuturi. Creşterea hemoglobinei reduse (metHb) duce la apariţia cianozei (coloraţia în albastru închis a tegumentelor) în absenţa oxigenului.

Scanned with OKEN Scanner

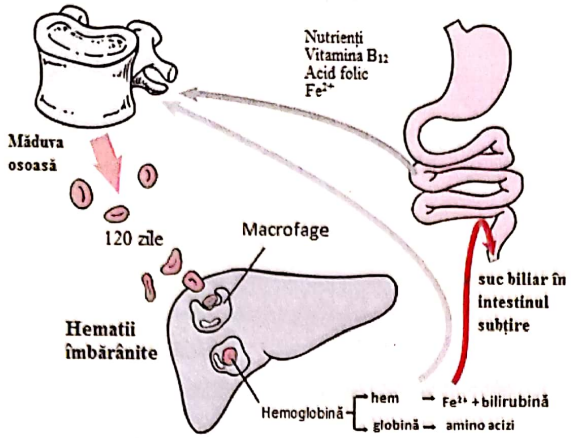


Fig. 3.21 *Durata de viață medie a unui eritrocit este de 120 zile. Hematiile îmbătrânite sunt preluate de sistemul reticuloendotelial și degradate la hem și fier iar globina este degradată la aminoacizi (adaptat după Polaski și Tatro 1996).*

Fig. 3.22 *Beta-Talasemia se caracterizează prin prezența unor eritrocite anormale care duce la hemoliza hematiilor in vivo, anemie hipocromă și hepatosplenomegalie, cu sfârșit letal.*

PATOBIOCHIMIE

Hemoglobinopatiile sunt boli ereditare datorate sintezei defectuoase a lanțurilor proteice din structura hemoglobinei. Pot fi grupate în defecte genetice/calitative (siclemia) sau cantitative (talasemiile).

În anul 1925 au fost descrise pentru prima dată de către Lee și Cooley cazuri de *talasemie* majoră, cunoscută și sub denumirea de *boala Cooley*.

Aceste afecțiuni se datorează sintezei deficitare ereditare a unuia dintre lanțurile polipeptidice din structura hemoglobinei. S-a demonstrat că homozigotii fac forma severă de boală – talasemia majoră, în timp ce heterozigoții fac o formă minoră.

Dintre formele de talasemie, beta-talasemia este cea mai comună, în care este blocată formarea lanțului beta. Boala se caracterizează prin prezența unor eritrocite anormale, cu predominanța hemoglobinei A_2 și HbF determinând hemoliza hematiilor în vivo, anemie hipocromă și hepatosplenomegalie cu sfârșit letal (Fig. 3.22).

Terapia curentă este de tip suportiv prin transfuzii, reducerea excesului de fier sau curativă cu celule stem hematopoietice izolate din măduva osoasă.

În prezent se experimentează cu eritropoietină, administrare de hemoglobină fetală sau antioxidanți. Terapia genică ar urma să corecteze defectele genetice dar rămâne deocamdata o opțiune pentru viitor (Fig 3.23).

Siclemia – este o afecțiune dată de mutații în structura hemoglobinei ce modifică structura cuaternară, și în consecință solubilitatea și capacitatea de a lega oxigenul. În anul 1949, Pauling descrie prima hemoglobină anormală, *hemoglobina S*, caracterizată prin înlocuirea unui singur aminoacid cu altul în structura hemoglobinei, și anume acidul glutamic este înlocuit cu valina în poziția 6 a lanțului beta. HbS caracterizează siclemia și are o migrare electroforetică diferită de hemoglobina normală. Hematiile au o formă modificată, sunt hematii "în seceră"(Fig 3.24). Manifestările clinice sunt reprezentate de crizele vasoocluzive datorate polimerizării HbS în fibre lungi ce obturează vasele (Fig. 3.25).

Hemoglobina glicozilată– în condițiile hiperglicemiei cronice, caracteristica diabetului zaharat, glucoza se leagă neenzimatic de gruparea amino a hemoglobinei (Fig 3.26). Determinarea în laborator a hemoglobinei glicozilate este un indicator util de monitorizare a controlului pe termen lung al diabetului zaharat (60 -120 de zile).

Mioglobina

Este o hemoproteină monomer alcătuita dintr-un singur lanț de aminoacizi (un număr de 154), având drept grupare prostetică hemul, în care fierul este în stare redusă de Fe^{2+} (fier feros). Partea proteică din structura mioglobinei (albastru) este dispusă în α-helix în jurul unui nucleu central alcătuit din hem (roșu). Hem-ul este capabil să lege oxigenul precum și oxidul nitric și monoxidul de carbon.

Scanned with OKEN Scanner

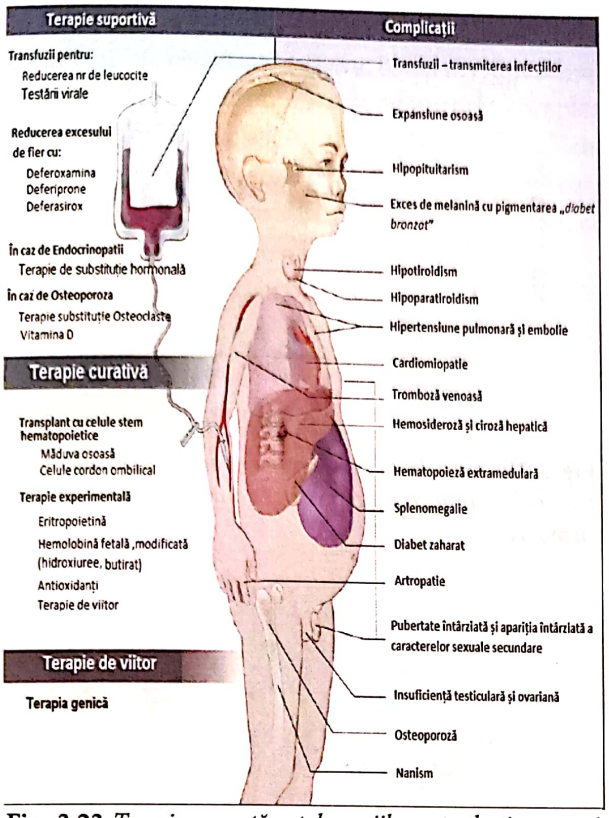


Fig. 3.23 *Terapia curentă a talasemiilor este de tip suportiv prin transfuzii care vizează reducerea excesului de fier sau curativă cu celule stem hematopoietice izolate din măduva osoasă.*

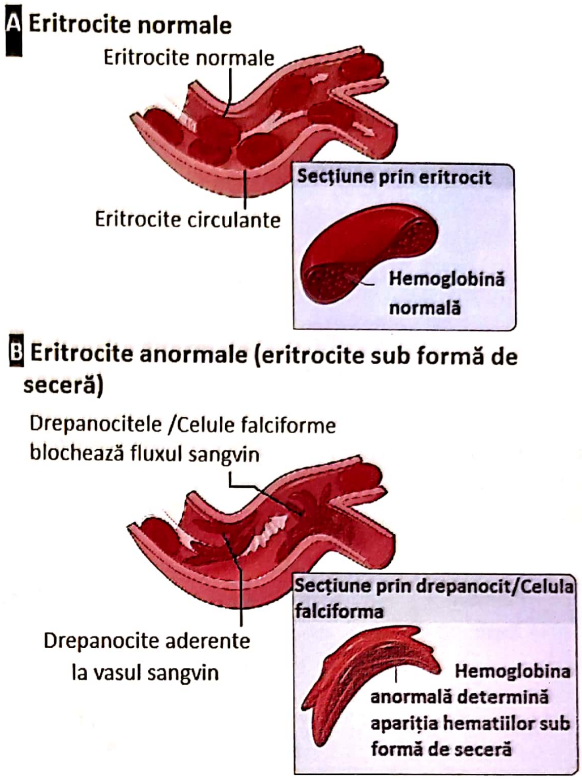


Fig. 3.25 *Manifestările clinice ale siclemiei sunt reprezentate de crizele vasoocluzive datorate polimerizării HbS în fibre lungi ce obturează vasele.*

Ansamblul este stabilizat prin două molecule de histidină situate deasupra (Hys 64) și sub planul nucleului porfirinic (Hys 93) (Fig 3.27). Mioglobina se găsește la nivelul mușchiului cardiac și în mușchii scheletici.

Îndeplinește numeroase roluri legate de oxigen, cel mai important fiind acela de rezervor de oxigen intracelular, legând oxigenul în condiții de aerobioză și cedându-l celulei în condiții de efort muscular crescut (anaerobioză)

Rolul fiziologic al mioglobinei

Mioglobina este eliberată în sânge prin alterarea celulei musculare, fiind eliminată prin rinichi și con-stituie un indicator al masei musculare afectate.

Fig. 3.24 *Hematiile pacientilor cu siclemie au o formă modificată, sunt hematii "în seceră".*

Dar mioglobina este toxică pentru rinichi putând duce la apariția insuficienței renale acute. Curba de legare a oxigenului pentru mioglobină este hiperbolică, prin comparație cu cea a hemoglobinei care este sigmoidă (Fig 3.28). Aceasta înseamnă că mioglobina se saturează cu oxigen la presiuni parțiale de oxigen *mai mici* decât hemoglobina și explică de ce molecula de mioglobină este adaptată la condiții de anaerobioză care pot apărea în cursul unui travaliu muscular prelungit (Fig 3.29).

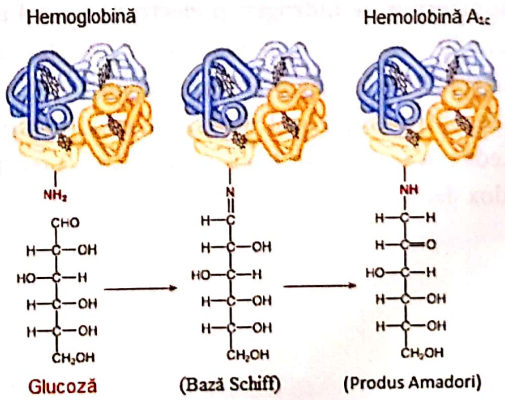


Fig. 3.26 *În condițiile hiperglicemiei cronice, caracteristica diabetului zaharat, glucoza se leagă neenzimatic de gruparea amino a hemoglobinei.*

Scanned with OKEN Scanner

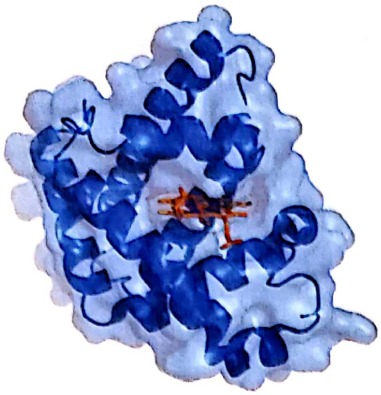


Fig. 3.27 *Partea proteică din structura mioglobinei (albastru) este dispusă în α-helix în jurul unui nucleu central alcătuit din hem (roșu).*

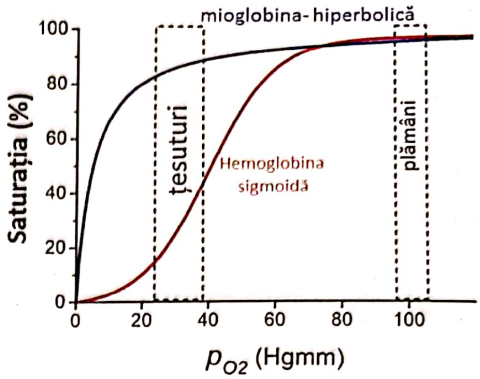


Fig. 3.28 *Curba de legare a oxigenului pentru mioglobină este hiperbolică, prin comparație cu cea a hemoglobinei care este sigmoidă.*

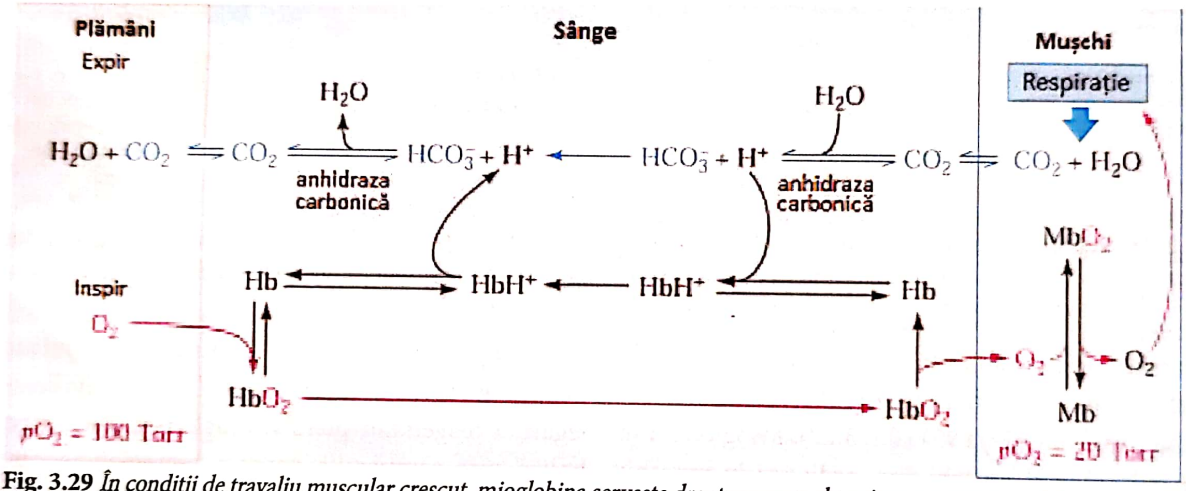


Fig. 3.29 *În condiții de travaliu muscular crescut, mioglobina servește drept rezervor de oxigen pentru mușchi.*

Citocromii

Sunt heteroproteine cu masă moleculară mică în comparație cu mioglobina sau hemoglobina care, ca și mioglobina și hemoglobina, au drept grupare prostetică hem-ul, legat de o parte proteică (Fig. 4.30). Ei intră în alcătuirea complexelor ce formează lanțul transportorilor de hidrogen și electroni, cu rol important în energetica celulară. Acest complex este localizat la nivelul membranei mitocondriale. Datorită prezenței fierului în structura lor, acești compuși pot ceda sau accepta electroni, participând la reacțiile redox dar nu leagă oxigenul.

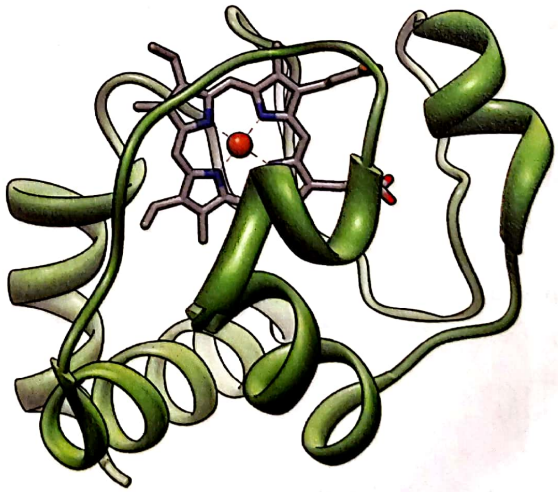


Fig. 3.30 *Citocromii au drept grupare prostetică hem-ul, legat de o parte proteică. Datorită prezenței fierului în structura lor, acești compuși pot participa în reacțiile redox dar nu leagă oxigenul.*

Scanned with OKEN Scanner

În funcție de lungimea de unda la care absorb, citocromii au fost clasificați astfel: a, b, c și d. Citocromul a și a3 alcătuiesc împreună un important complex enzimatic numit citocrom-c-oxidaza (complexul IV) al lanțului respirator. Complexul citocrom-oxidaza conține ioni de cupru în locul ionilor de fier, ce asigură transferul electronilor.

Scanned with OKEN Scanner

4. ENZIME

Enzimele sunt catalizatori biologici care fac posibilă desfășurarea reacțiilor chimice din organism la temperatura fiziologică. Componenta macromoleculară a enzimelor este de natură proteică cu excepția enzimelor implicate în metabolismul acizilor ribonucleici care se numesc genetic ribozimi. Ribozimii sunt de fapt acizi ribonucleici și este singurul caz cunoscut de cataliza biologică în care nu sunt implicate proteine. Enzimele sunt răspândite în toate țesuturile și lichidele organismului.

Perspectiva istorică:

Istoria biochimiei s-a confundat zeci de ani cu istoria enzimelor. Descoperite în 1850 de către Louis Pasteur care a concluzionat că fermentația alcoolică, ce are loc în prezența drojdiei, este realizată de către „fermenți". În 1926 a fost cristalizată prima enzimă, ureaza, de către americanul James Sumner.

Enzimele sunt elemente cheie în menținerea vieții. Analiza și controlul farmacologic al enzimelor sunt importante în diagnosticul și terapia unor boli, deoarece:

- sunt catalizatori ce măresc *viteza de reacție*. În decursul acestui proces, enzimele își schimbă conformația revenind la forma inițială la finalul reacției. Practic în absența enzimelor, reacțiile ce au loc în organism, ar decurge atât de lent încât viața ar fi imposibilă.
- prezintă specificitate de substrat, adică leagă un anumit substrat și îl convertește în produși de reacție pe care apoi îi eliberează
- reprezintă puncte de *control metabolic și reglare* a căilor metabolice din organism

Enzimele intracelulare catalizează reacțiile ce alcătuiesc metabolismul, enzimele plasmatice membranare catalizează reacțiile ce au loc în celulă ca răspuns la stimuli externi, iar enzimele din sistemul circulator sunt responsabile, în principal de reglarea coagulării sângelui.

Este ușor de concluzionat că aproape fiecare proces, ce are loc în organism, este dependent de acțiunea unei enzime.

Compoziția enzimelor

Enzimele pot fi:

- *simple*, constituite numai din partea proteică sau
- *complexe*, constituite dintr-o parte proteică, ce se mai numește și apoenzima, plus o moleculă organică simplă, cu masa moleculară mică comparativ cu cea a părții proteice, care se numește *grupare prostetică*, dacă legătura dintre partea proteică (apoenzima) și molecula organică este covalentă, deci stabile sau *coenzimă*, dacă legătura dintre partea proteică (apoenzimă) și molecula organică este necovalentă, deci labilă.

Partea prostetică sau coenzima, o reprezintă în foarte multe cazuri vitaminele și, de fapt, tulburările metabolice legate de avitaminoze se datorează inactivării enzimelor, care nu funcționează corespunzător fără vitamine. Partea prostetică sau coenzima pot fi:

- coenzime cu transfer de echivalenți reducători (hidrogen și electroni), de natură vitaminică – catalizează reacțiile redox și sunt: FAD (flavin-adenin-dinucleotid) și NAD (nicotinamid adenin dinucleotid)
- coenzime de transfer al unor grupări chimice (de natură vitaminică)- TPP (tiaminpirofosfat), CoA, Biotina, PALPO (piridoxalfosfat)
- nucleozidtrifosfați macroergici (ATP, UTP, CTP, GTP)

În cazul în care gruparea prostetică este un metal, enzimele se numesc metaloenzime. Dacă însă, metalul nu este permanent legat de enzimă, atunci se poate vorbi de enzime activate de metale. Anumiți ioni metalici (Fe^{3+}, Cu^{2+}) participă la unele reacții de oxidoreducere.

Scanned with OKEN Scanner

Clasificarea enzimelor

Inițial, enzimele erau denumite după numele cercetătorilor care le descopereau. Ulterior, când numărul enzimelor a crescut vertiginos, enzimele au fost împărțite în 6 clase de funcționalitate de către International Union of Biochemists (I.U.B.) (Tabel 5.1).

Enzimele leagă substratul și îl orientează în poziția necesară desfășurării reacției (Fig. 5.1). Fără puterea catalitică a enzimelor, reacții precum cele implicate în transmiterea impulsului nervos, contracția inimii, digestia alimentelor, s-ar desfășura cu o viteză mult prea lentă, incompatibilă cu viața.

Tabelul 3.1. *Principalele clase de enzime și funcția lor biochimică.*

Număr	Clasa	Funcție biochimică
1.	Oxidoreductaze	Catalizează schimbul de protoni (H^+) și electroni (e^-)
2.	Transferaze	Catalizează transferul de grupări funcționale între molecule donoare și acceptoare. Din această categorie fac parte și *kinazele* care sunt transferaze specializate în transferul de grupări fosfat de la ATP către alte molecule
3.	Hidrolaze	Catalizează reacții de hidroliză cu participarea apei
4	Liaze	Catalizează adiția de apă, amoniac sau bioxid de carbon la legături duble sau elimină aceste molecule și rezultă legături duble
5.	Izomeraze	Catalizează reacții de izomerizare, de exemplu conversia formei L în forma D la aminoacizi
6.	Ligaze	Catalizează reacții de unificare (legare) a două grupări chimice cu ajutorul energiei din ATP

Conform acestei clasificări, fiecare enzimă este identificată cu un cod numeric. Sistemul IUB specifică de asemenea un nume pentru fiecare enzimă format din:

-numele substratului
-numele produsului
-clasa funcțională a enzimei

Exemplul 1:
L-Malat + NAD^+ → Piruvat + CO_2 + NADH + H^+
Enzima: L-Malat:NAD-Oxidoreductaza
Exemplul 2:
ATP + D-Hexoza →ADP + D-Hexozo-6-fosfat
Enzima: ATP:D-Hexozo-6-Fosfotransferaza
Majoritatea enzimelor se definesc cu sufixul "-aza"

Reacțiile catalizate de enzime. Specificitatea de substrat.

Reacțiile catalizate de enzime prezintă 3 pași de bază:

1. Legarea substratului: E + S ⟷ ES
2. Conversia substratului legat în produs de reacție: ES ⟷ EP
3. Eliberarea produsului de reacție: EP ⟷ E + P

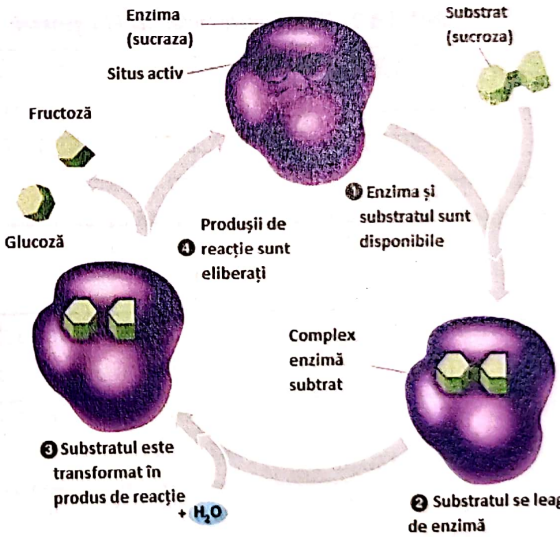


Figura 4.1 *Schema generală a catalizei enzimatice. Enzimele leagă substratul la centrul activ și îl orientează în poziția necesară desfășurării reacției. După reacție, enzima este refolosită.*

Fiecare enzimă catalizează o reacție chimică specifică și stă la baza clasificării enzimelor – *specificitate de reacție*. Proprietatea enzimelor de a selecta doar un anumit substrat sau un grup de substrate se numește *specificitate de substrat* (Fig. 4.2).

Scanned with OKEN Scanner

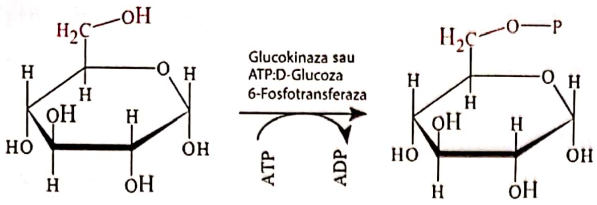


Figura 4.2. *Enzimele posedă o selecție pentru un anumit substrat sau un grup de substrate (specificitate de substrat).*

Această proprietate rezultă din secvența unică a aminoacizilor ce formează structura 3D a unei enzime. Specificitatea de acțiune constituie o caracteristică esențială a enzimelor care este conferită de partea sa proteică (apoenzima).

În general, enzimele acționează numai asupra unui substrat. Dar această specificitate de substrat nu este absolută, enzimă acționând, cu o eficiență mai mică, asupra unor substrate cu structură asemănătoare. De exemplu, pt alcool-dehidrogenază (ADH), etanolul este substratul preferat, dar poate cataliza reacțiile de oxidoreducere și ale altor alcooli începând de la metanol la butanol.

Enzimele prezintă de asemenea o *specificitate sterică*, acționând numai asupra zaharidelor din seria D dar nu și asupra celor din seria L. În cazul aminoacizilor, enzimele vor utiliza ca substrat numai aminoacizii din seria L dar nu și izomerul optic corespunzator, D. Există însă o clasa de enzime, numită racemaze, care ne oferă o excepție de la regulă: racemazele convertesc izomerii D în izomeri L și invers. Aceste enzime acționează asupra ambilor izomeri.

Există și cazuri în care același substrat este utilizat de mai multe enzime și rezultă același produs, dar cu o eficiență diferită. Enzimele cu astfel de proprietăți se numesc izoenzime. Ele au structuri primare (secvență de aminoacizi) similare dar nu identice, și sunt distribuite diferit în diferite țesuturi. Cel mai cunoscut caz de set de izoenzime este lactat dehidrogenaza (LDH). Aceasta este un tetramer compus din combinațiile a două subunități: H (heart, inimă) și M (muscle, mușchi). Combinația dintre H și M furnizează 5 izoenzime (Tabel 4.2). De un interes medical deosebit este creatinkinaza (CK) care are 3 izoenzime, fiecare fiind un dimer (Tabel 4.3).

Tabelul 4.2. *Izoenzimele lactat dehidrogenazei;*

LDH-Izoenzima	Compoziție
LDH-Izoenzima I1	H H H H; specific pt tesutul cardiac
LDH-Izoenzima I2	M H H H
LDH-Izoenzima I3	M M H H
LDH-Izoenzima I4	M M M H
LDH-Izoenzima I5	M M M M; specifică pt muschi, ficat

Tabelul 4.3. *Izoenzimele creatin kinazei*

CK-Izoenzima	Compoziție
CK-Izoenzima I1	M M; specific pt mușchi de schelet
CK-Izoenzima I2	B B; (B= brain, creier) dar prezentă în tumori ale tractului gastrointestinal
CK-Izoenzima I3	M B; specifică pt mușchiul cardiac

Scanned with OKEN Scanner

Interacția enzimă – substrat

Se cunosc două modele care modelează interacțiunea dintre enzimă și substrat:

- modelul lacăt–cheie, este intuitiv și a fost propus de chimistul german Emil Fischer (Fig. 4.3)
- modelul armonizării induse, o modificare a modelului cheie propusă de chimistul american Daniel Koshland care a propus ca procesul de "potrivire" sterică a cheii în lacăt este reciproc având loc în etape care presupun modificări conformaționale atât în substrat cât și în structura centrului activ al enzimei (Fig. 4.4)

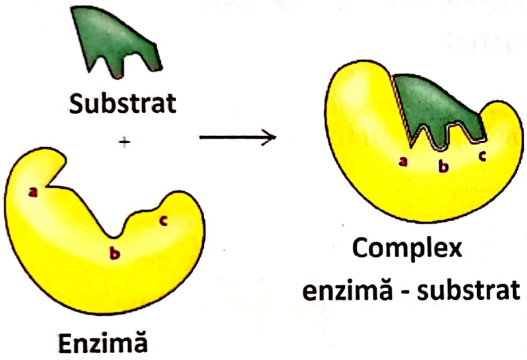


Figura 4.3. *Modelul steric lacăt (enzima) – cheie (substrat) a fost propus de chimistul german Emil Fischer.*

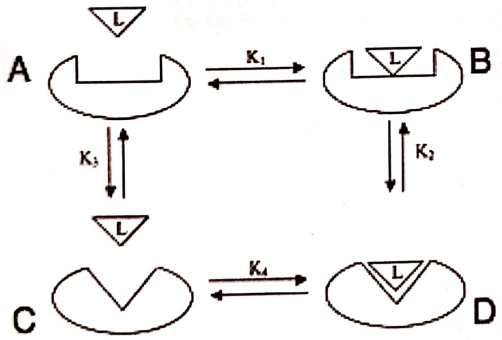


Figura 4.4. *Modelul Fischer a fost perfecționat de Daniel Koshland care a propus că procesul de "potrivire" sterică a cheii în lacăt are loc în etape care presupun modificări conformaționale atât în substrat cât și în structura centrului activ al enzimei.*

Dintre aceste două modele, cel care descrie cel mai bine fenomenele este modelul armonizării induse. Conform acestui model situsul catalitic al enzimei se găsește într-o stare relaxată, grupările active nefiind în poziția optimă de legare a substratului.

Definim *situs catalitic*, o zonă specifică, precis stabilită din structura părții proteice a enzimei, alcătuită dintr-un număr mic de resturi de aminoacizi care leagă substratul la enzimă.

Interacțiunea enzimei cu substratul este inițial slabă, dar induce modificări în conformația enzimei ce apropie situsul catalitic de legătura cu substratul pentru ca aceasta să fie desfăcută iar substratul transformat în produs de reacție. Tot la nivelul situsului catalitic se găsesc grupări funcționale care contribuie la transformarea substratului în produs de reacție, aceste grupări apartinând coenzimelor sau cofactorilor.

Pentru a se putea desface sau forma noi legături este necesară o energie suplimentară a reactanților, acest exces energetic se numește *energie de activare*. Pentru a atinge această *stare de tranziție* în care substratul are nivelul cel mai înalt de energie este necesar un timp îndelungat. Enzimele au capacitatea de a scădea pragul de atingere al acestei stări, prin scăderea energiei de activare astfel încât reacția decurge cu viteze de mii de ori mai mari (Fig. 4.5).

Ca urmare, substratul activat și enzima formează un complex de tranziție instabil cu o stare de energie ridicată. După transformarea substratului în produs de reacție, ce este eliberat de la nivelul situsului catalitic, enzima revine la starea inițială (relaxată).

Strategia catalitică în reacțiile catalizate de chimotripsină

De ce energia necesară atingerii stării de tranziție este mai mică în situsul catalitic? Situsul catalitic este un "buzunar magic" (Fig. 4.6) deoarece:

1. Stabilizează starea de tranziție
2. Elimină apa
3. Conține grupări funcționale ce participă la reacție
4. Coenzimele atașate enzimelor contribuie la transformarea substratului în produs de reacție.

Scanned with OKEN Scanner

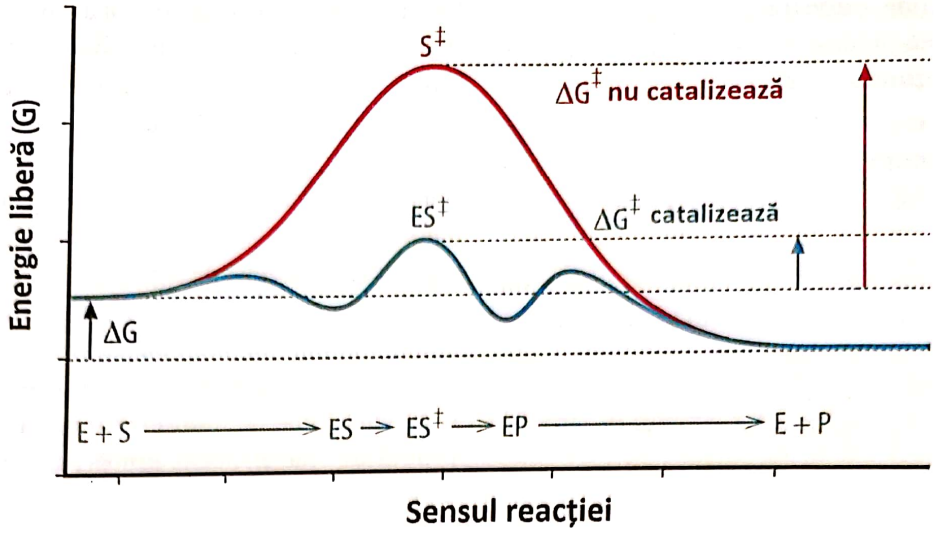


Fig 4.5. *Diagrama energetică a unei reacții enzimatice. De remarcat scăderea energiei de formare a complexului ES de la ΔG la ΔG (adaptat după Petrides, 2014).*

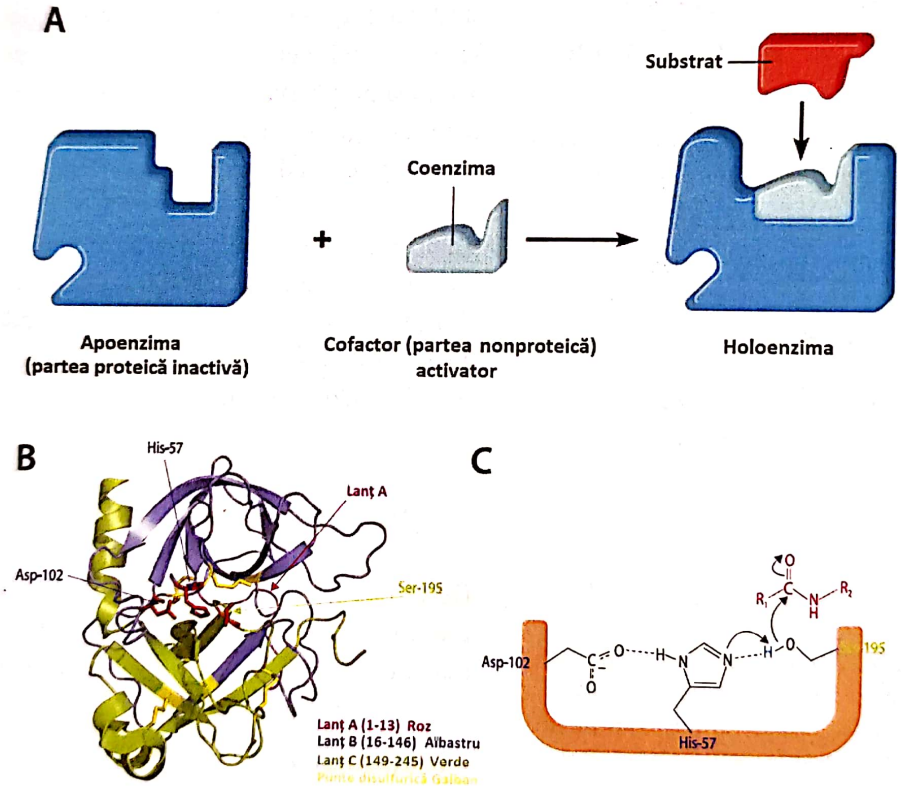


Fig 4.6. *Situsul catalitic (i) stabilizează starea de tranziție; (ii) este hidrofob; (iii) conține grupări funcționale ce participă la reacție; (iv) poate acomoda cofactori (coenzime) necesare transformării substratului în produs de reacție.*

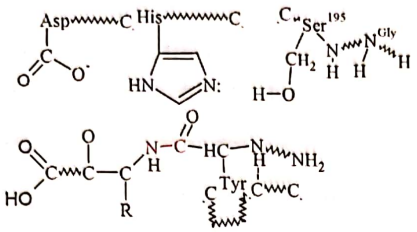
Enzimele folosesc diferite strategii pentru a reduce energia necesară atingerii stării de tranziție. Dintre aceste strategii fac parte: stabilizarea stării de tranziție, cataliza covalentă și cataliza acido-bazică.

Chimotripsina este o enzimă a tubului digestiv, membră a superfamiliei serinproteazelor ce catalizează reacția de hidroliză a legăturii peptidice din proteinele denaturate.

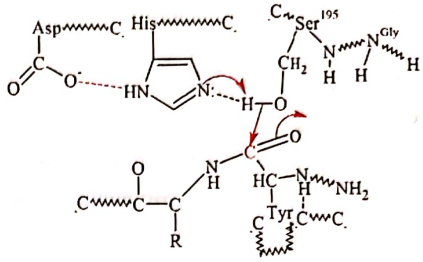
Scanned with OKEN Scanner

Serinproteazele sunt o categorie de enzime care utilizează serina de la nivelul situsului catalitic în vederea desfacerii legăturii peptidice. Chimotripsina utilizează ca strategie cataliza covalentă (Fig. 4.7).

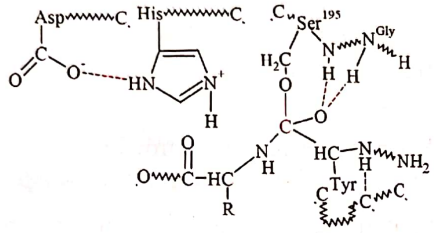
1. Legarea substratului



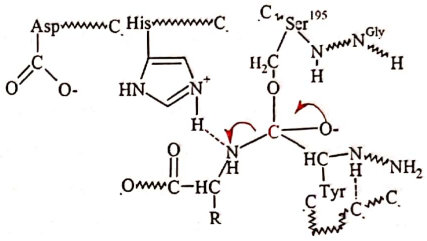
2. His polarizează Ser negativ la oxigen



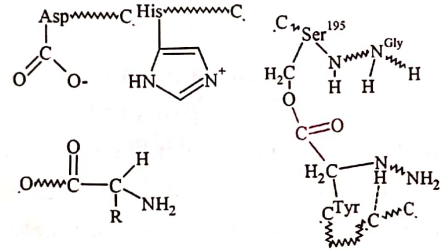
3. Intermediar stabilizat prin legături de hidrogen



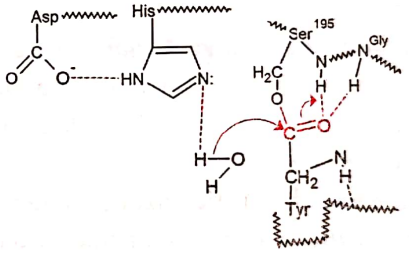
4. Hidroliza legăturii peptidice



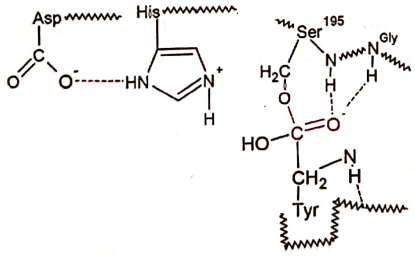
5. Intermediar covalent acilic



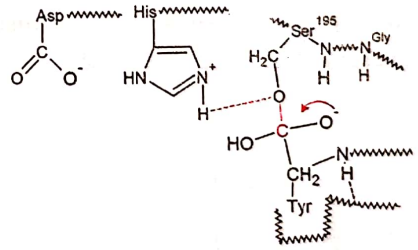
6. Dipolul de apă atacă atomul de carbon nucleofil



7. Al doilea intermediar tetraedric



8. Ruperea legăturii acil-enzimă prin cataliza acidă



9. Disocierea produșilor de reacție

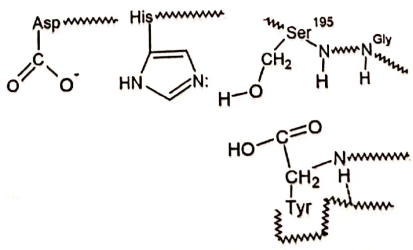


Fig 4.7. *Model catalitic pentru reacția enzimatică catalizată de chimotripsină. Distingem pașii esențiali: (i) desfacerea legăturii peptidice și formarea unui intermediar covalent acil-enzimă; (ii) hidroliza intermediarului acil cu eliberarea produsului de reacție și a enzimei*

Scanned with OKEN Scanner

Aceasta poate fi descrisă în mai multi pași dintre care cei mai importanți sunt:

1) desfacerea legăturii peptidice și formarea unui intermediar covalent acil-enzimă
2) hidroliza intermediarului acil cu eliberarea produsului de reacție și a enzimei

Cinetică enzimatică

Căile metabolice ce asigură supraviețuirea organismului sunt perfect corelate cu starea fiziologică a organismului, cu dieta, timpul dintre mese, mediul înconjurător sau cu vârsta. Coordonarea căilor metabolice din organism se datorează *enzimelor cu rol cheie în reglarea* fiecărei căi. Organismul posedă mecanisme care reglează activitatea enzimelor cheie și, în consecință, reglează calea metabolică în care acestea sunt implicate în funcție de starea fiziologică a organismului. Enzimele cu rol de reglare a unei căi metabolice sunt de obicei primele enzime ale căii respective și catalizează etapa limitantă de viteză a acestei căi.

Mecanismele prin care organismul acționează sunt fie prin activarea/inhibarea activității enzimei cheie sau prin creșterea/scăderea cantității de enzimă, influentând astfel viteza întregii căi metabolice.

În general, viteza de reacție enzimatică depinde de factori fizici cum ar fi pH, temperatura dar și de tăria ionică a mediului. În Fig.5.8 este exemplificată influența pH-ului asupra activității enzimatice prin afectarea ionizării unor aminoacizi din situsul activ al enzimei caspaza 9, o cisteinprotează.

Aceste mecanisme de reglare a proceselor metabolice din organism se pot grupa în trei categorii:

A. Reglarea dependentă de concentrația de substrat și respectiv de produs de reacție.

B. Reglarea cu ajutorul schimbărilor conformaționale de la nivelul situsului catalitic (enzimele allosterice, modificările covalente, interacțiunea dintre proteine, clivarea proteolitică).

C. Reglarea dependentă de concentrația enzimei

A. Mecanisme de reglare dependente de concentrația de substrat

Viteza de reacție a unei enzime este **dependentă de concentrația de substrat**. Ce este viteza de reacție? Acesta reprezintă numărul de molecule de substrat transformate în produs de reacție într-un anumit timp.

Exemplu de reacție chimică:

$$ADP + H_2PO_4 <----> ATP + H_2O$$

Pentru această reacție viteza este proporțională cu concentrația celor două substrate:

$$v = k1[ADP][H_2PO_4]$$

Răspunsul enzimei la schimbările ofertei de substrat este o strategie a organismului de dirijare a căilor metabolice în concordanță cu starea acestuia. Astfel, procese care sunt responsabile de eliminarea compușilor toxici din organism sunt apte să își mărească viteza de reacție în funcție de cantitatea de compus care trebuie eliminată astfel încât acesta să nu se acumuleze în organism, prevenind astfel apariția fenomenelor toxice.

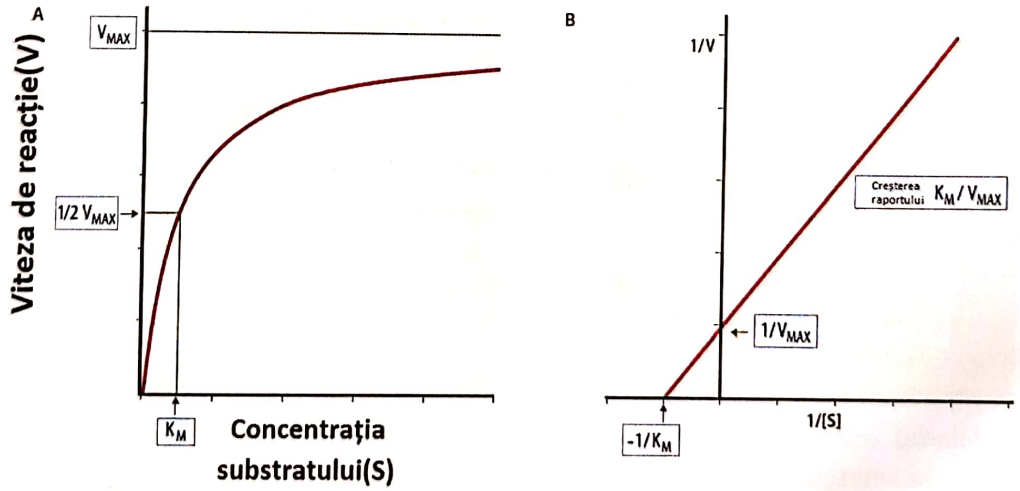


Fig 4.8 *Influența pH-ului asupra activității enzimatice optime. În cazul caspazei 9, pentru o activitate optimă este necesară formarea unei legături de hidrogen în centrul activ. (adaptat după Petrides, 2014).*

Scanned with OKEN Scanner

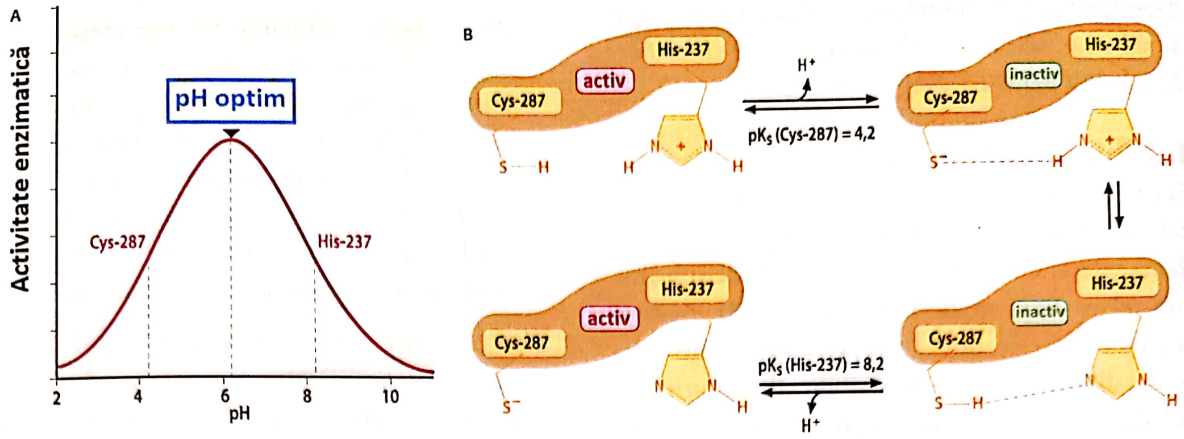


Fig 4.9. *Cinetica enzimatică de tip Michaelis-Menten. (A) Curba hiperbolică care reflectă relația dintre viteza de reacție maximă și concentrația de substrat. (B) Linearizarea ecuației Michaelis-Menten după Lineweaver-Burk în scopul determinării parametrilor KM și VMAX (adaptat după Petrides, 2014).*

Dependența unei enzime de concentrația de substrat a fost redată de către Michaelis și Menten, sub forma unei ecuații. Ecuația Michaelis-Menten descrie relația cantitativă dintre viteza de reacție (v_1), concentrația de substrat [S] și alte două constante: viteza maximă a reacției (Vmax) și constanta Michaelis-Menten (Km)(Fig. 5.9A).

La o concentrație ce tinde ipotetic la infinit, toate moleculele enzimei conțin legat substratul (enzima este saturată cu substrat) iar viteza de reacție este Vmax. Constanta Michaelis-Menten (Km) este o caracteristică (parametru) specific fiecărei enzime și reprezintă concentrația substratului la care viteza maximă de reacție este înjumătățită.

Enzimele sunt sensibile la schimbări ale concentrației substratului mai ales la valori sub cele ale Km. Adică, la valori mici ale concentrației substratului (sub valoarea Km), dublarea concentrației de substrat are drept efect dublarea vitezei de reacție, pe când la valori ale concentrației de substrat peste valoarea Km, dublarea acestuia influențează în mică măsură viteza de reacție. Cel mai concludent exemplu, în ceea ce privește importanța valorii Km în desfășurarea proceselor metabolice, este modul în care glucokinaza acționează imediat după masă și în înfometare. Glucokinaza (izoenzima a hexokinazei) este localizată în ficat și pancreas și catalizează reacția de debut a metabolizării glucozei în organism, fosforilarea glucozei la glucozo-6-fosfat. Glucozo-6-fosfatul poate fi transformat în ATP (energie) sau poate fi depozitată sub forma unui polimer numit glicogen.

Aceste două procese de transformare în energie sau de stocare depind de oferta de glucoză din sânge. Comparativ cu hexokinaza (Km = 1 mM), glucokinaza are un Km mare (10 mM) pentru glucoză (deci afinitate mică) și fosforilează glucoza de două ori mai rapid imediat după o masă bogată în carbohidrați comparativ cu perioada de post (înfometare), atunci când concentrația glucozei este mică.

Cum acționează glucokinaza pentru a face față excesului de glucoză ? Imediat după o masă bogată în glucide, valoarea glucozei sanguine crește de la 4mM la 10mM. Știind că valoarea Km este de 10mM, folosind ecuația Michaelis-Menten în fiecare dintre situații se va observa că:

1. Pentru o valoare a glucozei sanguine de 5mM, viteza de reacție este:

$$Vi = Vmax\ [S]\ /Km + [S] \rightarrow Vi = 0{,}28 x Vmax$$

permitând exportul glucozei din ficat către sânge.

2. Pentru o valoare a glucozei sanguine de 10mM, viteza de reacție este 0,50xVmax favorizând utilizarea glucozei în ficat pentru alte procese metabolice

La nivelul ficatului glucozo-6-fosfatul este stocat sub formă de glicogen, iar când această capacitate este depășită, este activată calea de sinteză a grăsimilor. Aceste două căi fiind reglate parțial de concentrația de glucoză, deci sunt parțial corelate cu aportul prin dietă. Mutațiile genetice ce afectează enzimele pot scădea viteza de legare a substratului la enzimă și în consecință cresc valoarea Km.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatul este o afinitate mai mică a enzimei față de substrat, adică este necesară o cantitate mai mare de substrat pentru a atinge 1/2Vmax.

Inhibitori enzimatici

Ecuația Lineweaver-Burke – este ecuația reciprocă celei lui Michaelis-Menten care reprezintă dependența vitezei de reacție de concentrația de substrat, sub forma unui grafic liniar (Fig. 5.9B). Această reprezentare este utilă în reprezentarea mecanismului diferitelor tipuri de inhibiție. Inhibitorii sunt substanțe care pot reduce viteza reacțiilor catalizate de enzime. Ei pot interacționa cu enzima în mai multe feluri:

1. **Competitiv** – acest tip de inhibitori intră în competiție cu substratul în vederea legării la situsul catalitic al enzimei.

   Efectul legării inhibitorului este creșterea Km fără să afecteze viteza maximă a reacției (Fig 4.10). Legătura dintre inhibitor și enzimă este reversibilă și o creștere a concentrației de substrat poate desface legătura enzimă-inhibitor. Pentru a intra în competiție cu substratul la situsul catalitic, inhibitorii competitivi prezintă de obicei analogie structurală cu substratul.

2. **Noncompetitiv** – inhibitorul scade viteza de reacție prin interacțiunea cu enzima fără a acționa direct la nivelul situsului catalitic. Consecința este scăderea vitezei de reacție fără a afecta însă Km (Fig 4.11). În acest caz, inhibitorul nu poate fi îndepărtat prin creșterea concentrației de substrat. Ionii unor metale pot acționa prin inhibiție noncompetitivă

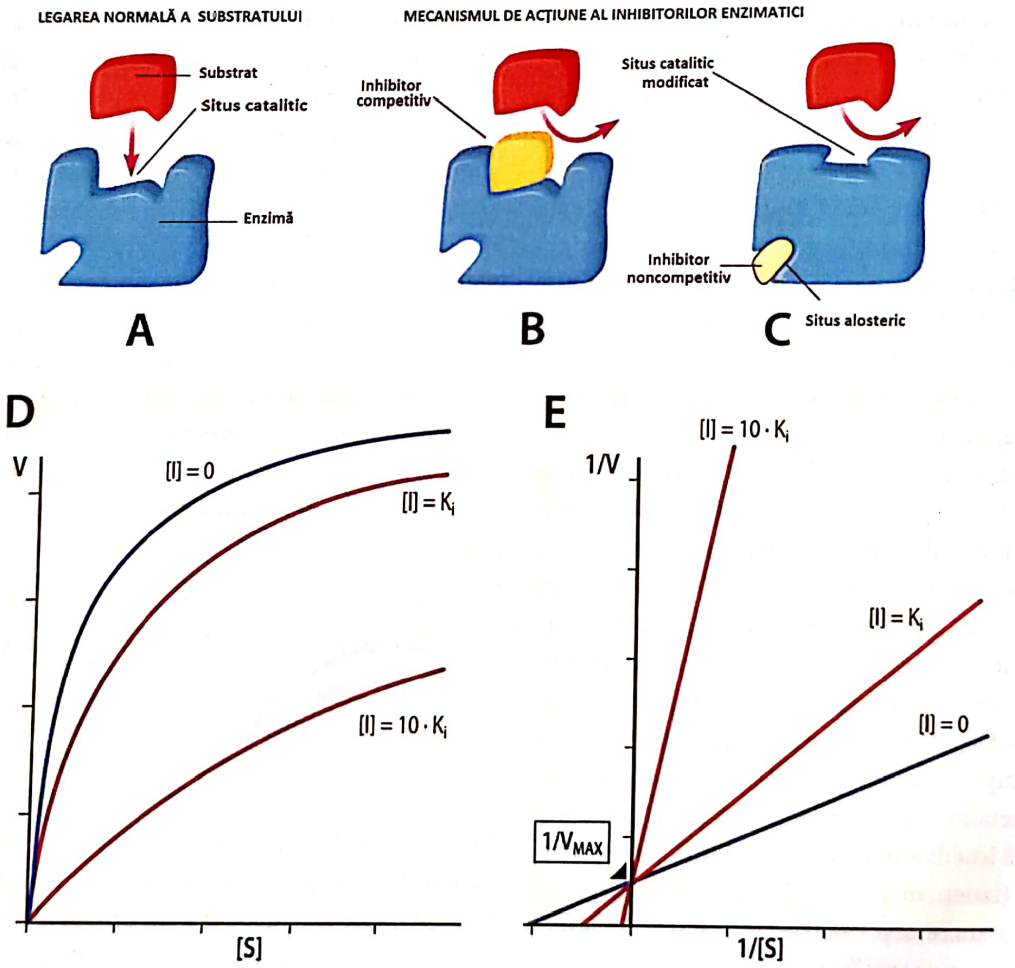


Fig 4.10 *Reglarea activității enzimatice. (A-C) Modele sterice de inhibiție competitivă și de reglare a activității enzimatice prin efect alosteric. (D) Cinetica de reacție în prezența unor concentrații crescânde de substrat. (E) Aceeiași cinetică în reprezentarea Lineweaver-Burk. De remarcat creșterea valorii Km la un V(MAX) relativ constant. (adaptat după Petrides, 2014).*

Scanned with OKEN Scanner

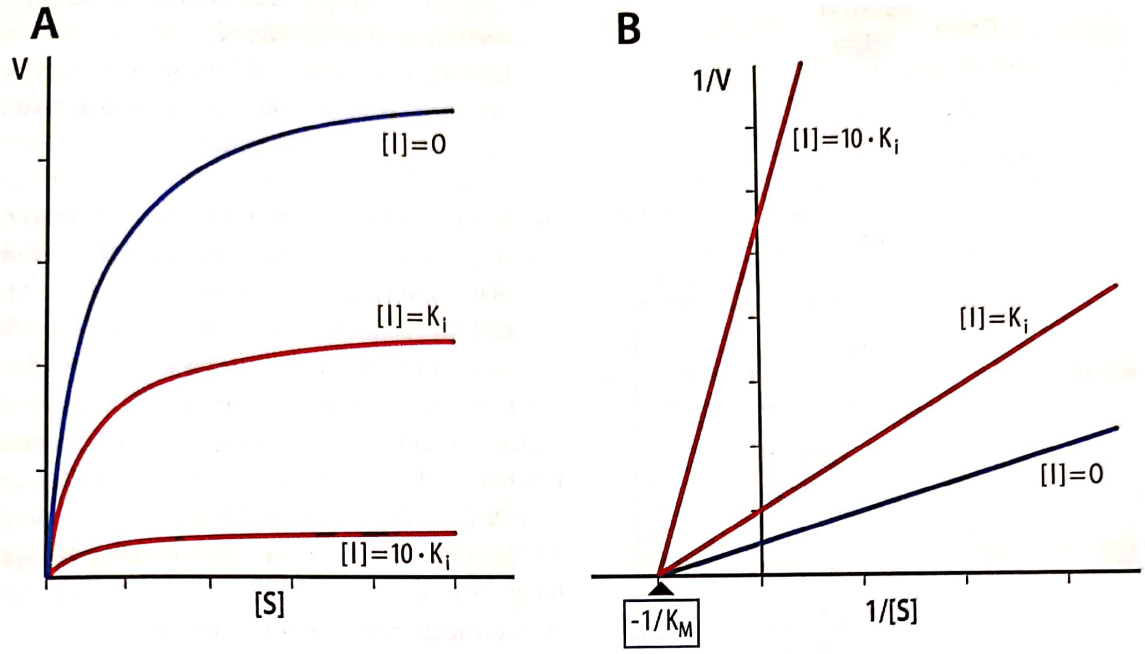


Fig 4.11 *În inhibiția noncompetitivă inhibitorul scade viteza de reacție fără a acționa direct la nivelul situsului catalitic. Consecința este scăderea vitezei de reacție fără a afecta însă Km (adaptat după Petrides, 2014).*

3. **Necompetitiv** – inhibitorul interacționează cu complexul enzimă-substrat, împiedicând formarea produsului de reacție. În acest tip de inhibiție sunt atât Km cât și Vmax reduse (5.12 A).

4. **Inhibiție prin produs de reacție** – în majoritatea căilor metabolice produsul de reacție este inhibitor reversibil al căii care îl produce. Astfel că abundența unui produs scade viteza de reacție a căii respective – mecanism numit inhibiție feed-back (Fig 4.13). Aces tip de inhibiție are numeroase aplicații în controlul căilor metabolice de către produșii de reacție intermediari sau finali (vezi Metabolisme).

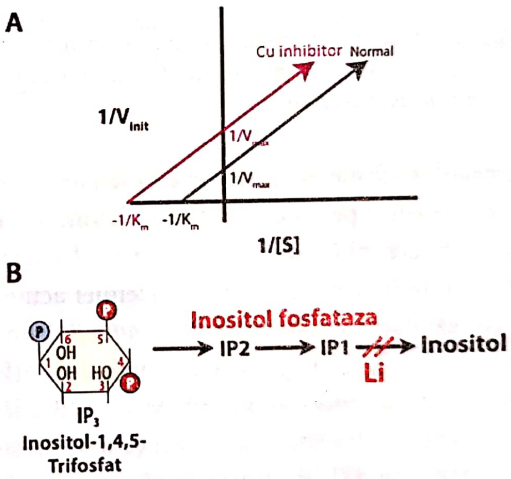


Fig 4.12 În inhibiția necompetitivă inhibitorul scade atât viteza de reacție cât și valoarea Km(A). Un exemplu de importanță clinică este inhibiția de către Li a inositol fosfatazei (B).

Importanța clinică

Aceste mecanisme de reglare și control a căilor metabolice cu ajutorul inhibitorilor reprezintă instrumente extrem de utile în terapia și diagnosticul unor afecțiuni.

Un exemplu de inhibiție competitivă de importanță medicală este inhibiția conversiei metanolului la formaldehidă realizată de alcool dehidrogenaza de către etanol și este folosită în terapia de dezintoxicare în urma consumului de metanol.

Un exemplu de relevanță clinică al inhibiției necompetitive este oferit de acțiunea inhibitorie necompetitivă a inositol trifosfatazei de către Li care are astfel o acțiune antidepresivă în sistemul nervos central (Fig. 4.13).

Antagoniști ai bazelor purinice și pirimidinice sunt folosiți în special ca agenți antivirali și terapia cancerului actionând ca inhibitori în procesele enzimatice care determină replicarea acestor organisme.

Scanned with OKEN Scanner

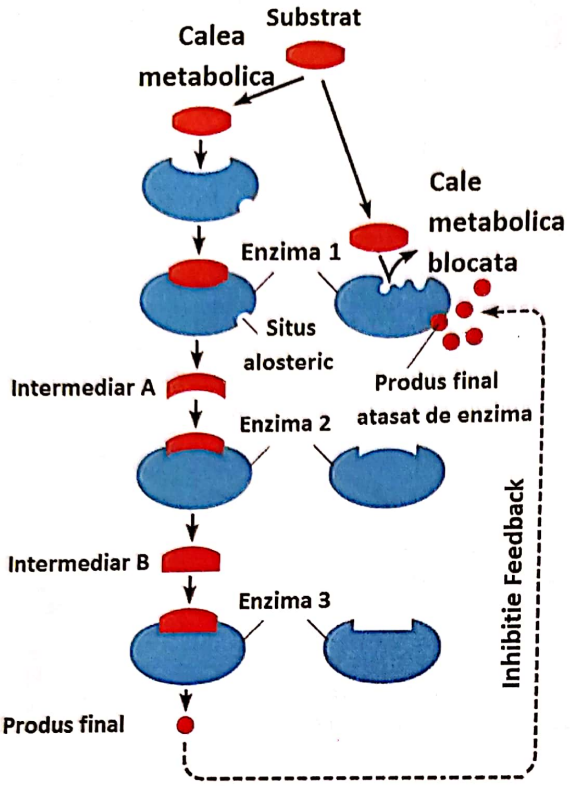


Fig 4.13 *Inhibiția prin produs de reacție are numeroase aplicații în controlul căilor metabolice de către produșii de reacție intermediari sau finali.*

Un antagonist al hipoxantinei este *6-Mercaptopurina* –un nucleotid purinic atipic cu un atom de sulf în poziția 6 care inhibă sinteza acizilor nucleici. (Fig 4.14A) și este folosită în terapia leucemiei acute la copil cu rezultate forte bune. *5-Fluorouracilul* – este un analog cu fluor în poziția 5 a uracilului (Fig 4.14B), acest nucleotid atipic inhibă timidilat sintetaza, enzimă ce transforma dUMP (dezoxiuridinmonofosfatul) în dTMP (dezoxitimidinmonofosfat) împiedicând astfel sinteza ADN.

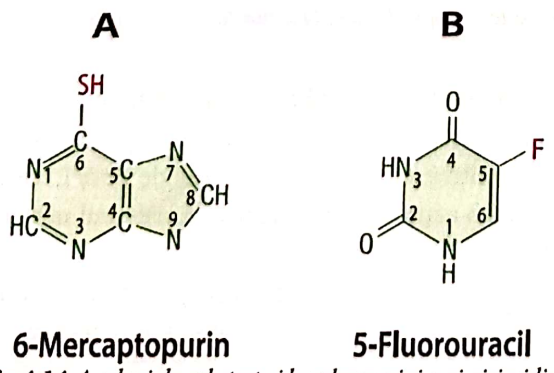


Fig 4.14 *Analogi de substrat ai bazelor purinice și pirimidinice (A) 6-Marcaptopurina, (B) 5-Fluorouracilul, folosite în terapia cancerului.*

Este utilizat în terapia unor tumori solide precum: colorectale, gastrice, de sân etc.
Acidul folic este foarte important pentru creșterea și diviziunea celulară de aici și deficiențele care apar datorită tulburării hematopoiezei.

Această proprietate poate fi folosită și în scop terapeutic și anume: Prin inhibiția competitivă a dihidrofolat reductazei de către Amethopterin (Methotrexat) se realizează inhibiția diviziunii celulelor tumorale (prin inhibiția sintezei de acizi nucleici și efect imunodepresiv). Similar, agenți patogeni care realizează sinteza acidului folic din acid p-aminobenzoic, pot fi opriți din creștere cu sulfonamide care acționează ca un inhibitor competitiv (Fig. 4.15). Acestea sunt doar câteva exemple, agenții terapeutici analogi metabolici care inhibă sinteza acizilor nucleici sunt mult mai mulți.

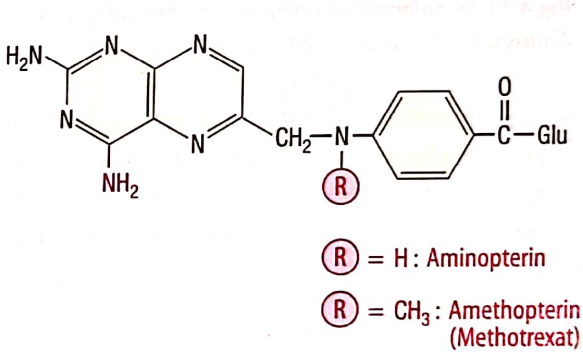


Fig 4.15 *Agenții patogeni care necesită acid folic, pot fi opriți din creștere cu sulfonamide care acționează ca un inhibitor competitiv.*

Un analog al hipoxantinei este *alopurinolul* care prin inhibiția competitivă a xantinoxidazei blochează formarea acidului uric în organism, fiind utilizat în tratamentul hiperuricemiilor primare și secundare (guta)(*vezi Metabolismul Proteic*).

Un alt exemplu sunt *statinele* care inhibă competitiv HMG CoA reductaza, enzimă ce catalizează o reacție din sinteza colesterolului la nivel hepatic. Efectul este scăderea colesterolului și a LDL. Sunt utilizate în terapia hiperlipoproteinemiilor cu hipercolesterolemie)(*vezi Metabolismul Lipdic*).

În afara rolului terapeutic, inhibitorii joacă un rol important în diagnosticul enzimatic, fiind utilizați

Scanned with OKEN Scanner

în inhibiția selectivă a unor izoenzime favorizând astfel detecția altora. Un exemplu îl constituie tartratul, care este utilizat în vederea inhibării unor izoforme ale fosfatazei acide. Deoarece complexul de tranziție se leagă mult mai strâns la enzimă decât substratul, analogi structurali ai complexului stării de tranziție sunt inhibitori mult mai puternici decât analogii substratului.

B. Mecanisme de reglare enzimatică prin schimbări conformaționale

1. Enzimele allosterice. Activarea sau inhibiția allosterică.

Enzimele pot fi modulate în activitatea lor de molecule mici care se leagă de enzimă la situsuri diferite de cele ale substratului (situsuri allosterice – allo = alt loc), deci nu la centrul activ al enzimei. Prin legare aceste molecule mici determină schimbări în conformația enzimei cu efecte fie negative fie pozitive asupra activității enzimatice. Aceste molecule se numesc efectori allosterici (activatori sau inhibitori) iar enzimele ce se supun acestui mecanism de reglare sunt denumite enzime allosterice.

Este important pentru enzimele situate în puncte cheie de reglaj metabolic și pentru cele de semnalizare celulară ce coordonează procesele metabolice.

Cel mai cunoscut efector allosteric este AMP ciclic (cAMP; Cyclic Adenosine Monophosphate) implicat în transducția intracelulară care se leagă de *cAMP-dependent protein kinase (PKA)* activând-o. AMPc este cunoscut și ca mesager hormonal secundar, transducând un mesaj hormonal extern într-un răspuns biochimic intracelular.

AMP ciclic are în structura sa gruparea fosfat legată de grupările hidroxil ale atomilor de carbon 3` și 5` din structura ribozei, alcătuind un ciclu. Atunci când AMPc se leagă la situsul allosteric al proteinkinazei A, subunitatea reglatorie se desprinde și pune în libertate subunitățile active catalitic (Fig. 4.16).

Reglarea enzmatică prin efectori allosterici este o cale avantajoasă comparativ cu inhibiția competitivă sau necompetitivă în situsul catalitic al enzimei, efectorii allosterici fiind mult mai eficienți (efectul lor apare imediat ce se schimbă concentrația substratului în celulă).

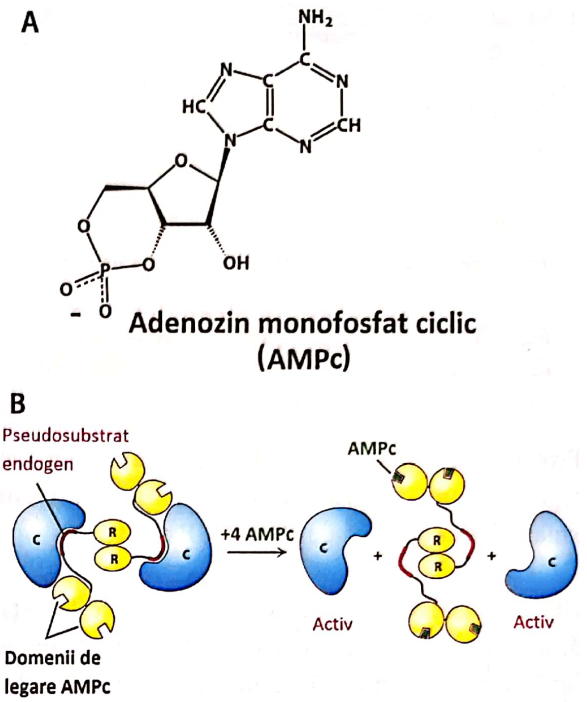


Fig 4.16 *(A) Structura AMP ciclic care acționează ca un agent alosteric universal. (B) Activarea părții catalitice a unei enzime prin efect alosteric generat de cAMP care se leagă de partea reglatoare (R) a enzimei eliberând astfel partea catalitică. (modificat după Biochemistry, Seventh Edition, W.H. Freemen and Company)*

Un alt avantaj este dat de faptul că lăsând liber situsul catalitic ei se pot comporta ca și activatori nefiind limitați doar la acțiune inhibitorie.

2. Mecanisme de reglare enzimatică prin fosforilare

Activitatea multor enzime din căile metabolice poate fi coordonată prin fosforilare cu ajutorul unor proteinkinaze sau prin defosforilare de către protein fosfataze. Gruparea fosfat este încărcată electronegativ și prin legarea la resturile de aminoacizi din structura proteinei (serina/treonina) interacționează cu alte resturi de aminoacizi determinând schimbări conformaționale la nivelul situsului catalitic. Aceste schimbări pot active sau inhibă activitatea enzimatică, astfel că unele enzyme sunt active în forma fosforilată iar altele inactive. Activarea sau inhibarea enzimei se realizează prin procesul de fosforilare/defosforilare (Fig 4.17). Un exemplu îl constituie *glicogenfosforilaza* care degradează glicogenul și care este activă în forma fosforilată și inactivă în forma defosforilată (vezi Metabolimul Glucidic).

Scanned with OKEN Scanner

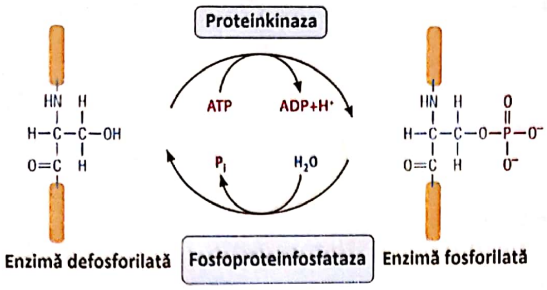


Fig. 4.17 *Controlul activității enzimatice prin procese de fosforilare realizate de protein kinaze și defosforilare realizate de protein fosfataze.*

Proteinkinaza A este legată strâns la enzima și reglează numai activitatea acestei enzime. Protein kinaza A este activată de către AMP ciclic.

Din punct de vedere cinetic, de remarcat diferența dintre hiperbola tipică cineticii Michaelis-Menten (gri) și cea determinată de interacția enzimă-substrat alosteric (roșu). Funcțional, efectorul alosteric (fructozo 2,6 difosfatul permite atât o saturare a enzimei de conversie cu ATP (A) cât și o mărire foarte mare a vitezei de reacție la utilizarea substartului fructozo-6-fosfat (B)(Fig. 4.18)

Glicogenfosforilaza musculară este activată cu ajutorul Ca^{2+} - calmodulinei, dar și cu ajutorul proteinkinazei A. Atunci când mușchiul primește un impuls nervos, se eliberează calciul de la nivelul reticulului endoplasmic, ce se leagă de subunitatea de calmodulină a glicogenfosforilazei determinând schimbările conformaționale ce activează enzima, rezultatul fiind o producție crescută de ATP necesar contracției musculare. Pe de altă parte, calciul se leagă la troponina C (membră a familiei Ca^{2+}-calmodulinei) reglând astfel contracția musculară.

5. Mecanisme de reglare prin scindare proteolitică

Multe enzime sunt secretate ca *proenzime inactive*, ele devenind apte să își exercite funcția prin scindare în fragmente mai mici. Majoritatea proteazelor implicate în coagularea sângelui sunt *zimogeni* (forme inactive), precum fibirinogenul și protrombina, care circulă prin sânge în formă inactivă. Ele sunt clivate în formele active, fibrina și trombina, de către alte proteaze care devin active prin atașarea la locul leziunii peretelui vascular.

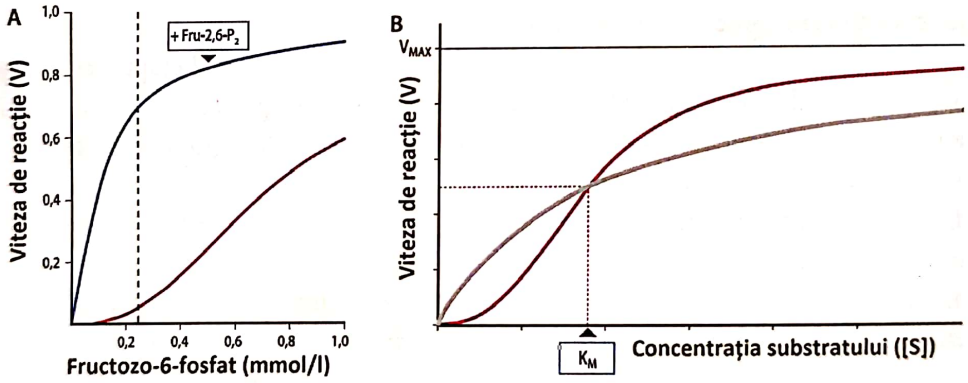


Fig 4.18 *Efectul alosteric asupra cineticii enzimatice. De remarcat diferența dintre hiperbola tipică cineticii Michaelis-Menten (gri) și cea determinata de interacția enzimă-substrat alosteric (roșu). Linia întreruptă indică concentrația intracelulară a metabolitului (adaptat după Petrides, 2014)*

4. Mecanisme de reglare prin interacțiunea proteină-proteină

Există proteine cu rol modulator care, prin interacțiune cu alte proteine, determină schimbări la nivelul situsului catalitic al acestora, activând sau inhibând astfel proteina de care se leagă. Un astfel de exemplu este Ca^{2+}-calmodulina, ce conține în structura sa patru situsuri de legare pentru calciu și o regiune flexibilă (Fig. 4.19).

Astfel casada coagulării este activată la acest nivel și nu oriunde, în circulația sanguină. Alte exemple includ enzimele digestive care sunt sintetizate inițial sub formă de precursori inactivi: pepsinogen în stomac activat la pepsină de mediul acid din stomac sau chimotripsinogen sintetizat în pancreas și activ sub formă de chimotripsină în duoden (Fig. 4.20).

Scanned with OKEN Scanner

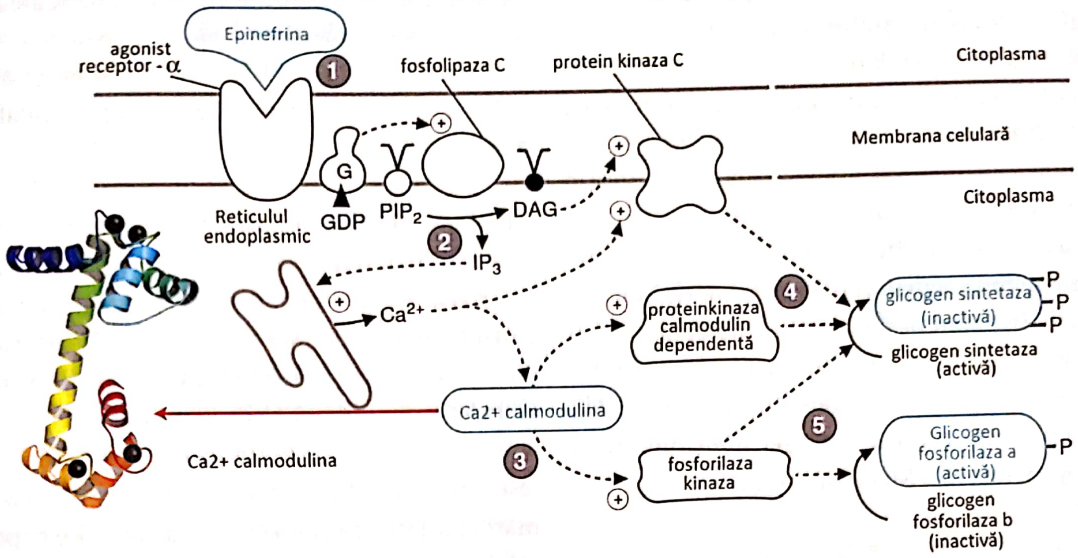


Fig. 4.19 *Mecanisme de reglare prin interacțiunea proteină-proteină.Glicogenfosforilaza musculară este activată cu ajutorul Ca2+-calmodulinei, dar și cu ajutorul proteinkinazei A (modificat după Mark's)*

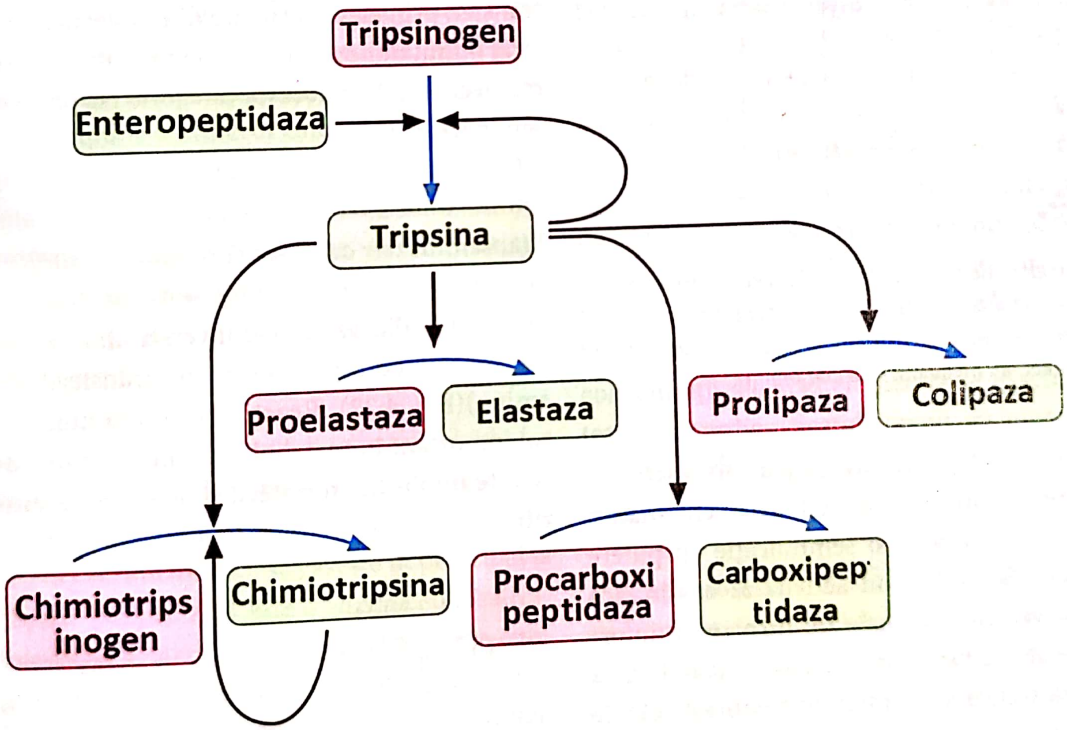


Fig. 4.20 *Mecanisme de reglare prin scindare proteolitică. Multe enzime sunt secretate ca proenzime inactive, ele devenind apte să își exercite funcția prin scindare în fragmente mai mici.*

Principii generale de reglare metabolică

Căile metabolice reprezintă o succesiune de reacții în care produsul final al uneia este substrat pentru următoarea reacție. Fiecare dintre aceste reacții fiind catalizate de enzime diferite.

Fiecare cale metabolică este sub supravegherea unei enzime regulatorii, care influențează viteza de reacție a întregii căi prin mai multe mecanisme:

Scanned with OKEN Scanner

a. *reglare tip feed-back* – în care produsul final al căii poate controla propria rată de sinteză, de obicei prin modularea allosterică a enzimei cheie de reglare sau prin inducția/represia genei ce codifică sinteza enzimei (Fig. 4.13).
b. *reglare de tip feed-forward* – în care substratul poate induce activarea enzimei allosterice, sau inducția transcriptiei genice. În general procesele metabolice prin care se elimină reziduurile metabolice sunt pasibile de reglare tip feed-forward adică produsul de reacție mărește viteza de consumare a substratului (Fig. 4.21A). Un exemplu este reglarea sintezei ureii din ciclul ureogenetic (vezi Metabolismul Proteic)

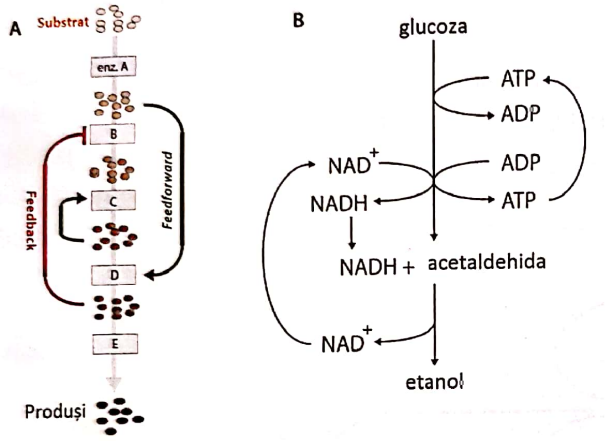


Fig. 4.21. *Reglare de tip feed-forward a vitezei reacțiilor enzimatice. În general procesele metabolice prin care se elimină reziduurile metabolice sunt pasibile de reglare tip feed-forward (eliminarea ureei sau metabolizarea etanolului).*

Enzimele în diagnostic si patologie

Determinarea cantitativă a activității enzimatice în ser s-a dovedit a avea o semnificație cu putere de diagnostic. Schimbări în activitatea enzimatică raportate la valorile normale ne furnizează informații despre starea funcțională a unui organ. Logica funcționează și invers: un medic care dorește să știe dacă ficatul unui pacient funcționează în limite normale, recomandă efectuarea unor teste legate de enzime implicate strâns în metabolismul ficatului cum ar fi amino transferazele alanin transaminaza, ALT (GPT) și aspartat aminotransferaza, AST (GOT).

În categoria enzimelor hepatice mai sunt cuprinse, pe lângă alanină și aspartat aminotransferazele, și γ-glutamiltransferaza, fosfataza alcalină, 5-nucleotidaza, colinesteraza serică și glutamatdehidrogenaza. Cel mai frecvent utilizate enzime în evaluarea funcției hepatice sunt: alanin aminotransferaza (ALT), aspartat aminotransferaza (AST), fosfataza alcalină (FAL), γ-glutamiltransferaza (GGT) și lactat dehidrogenaza.

Alanin-aminotransferaza și γ-glutamiltransferaza se găsesc în mai multe tesuturi, dar activitatea plasmatică a acestor enzime reflectă leziunea hepatică, fiind considerați markeri specifici ai leziunii hepatice. Aspartat-aminotransferaza se găsește în ficat, mușchi (scheletic și cardiac) și în cantitate mică în eritrocite. Lactatdehidrogenaza este distribuită în multe țesuturi, neavând o specificitate diagnostică foarte mare. Fosfataza alcalină reflectă leziunile hepatice și osoase.

Transferazele

Enzimele din această clasă catalizează reacții de transfer, prin care o grupare din molecula unui substrat numit donor este cedată unui altui substrat numit acceptor. Din aceasta categorie fac parte și transaminazele.

Transaminazele

Transaminazele catalizează *reacția de transfer a unei grupări amino de la un α-aminoacid pe un α-cetoacid* si realizează interconversia aminoacizilor în α-cetoacizii corespunzători prin transferul grupării amino)(Fig. 4.22). Reacția de transaminare are un rol important în metabolismul intermediar, deoarece este implicată în sinteza și degradarea aminoacizilor.

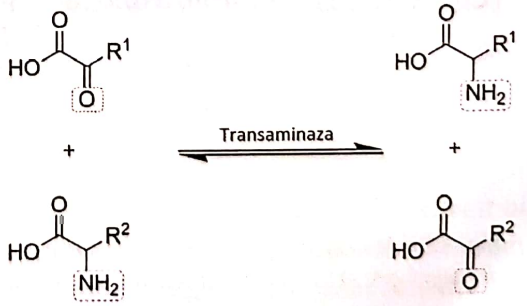


Fig. 4.22. *Transaminazele catalizează reacția de transfer a unei grupări amino de la un α-aminoacid pe un α-ceto acid și realizează interconversia aminoacizilor în α-cetoacizii corespunzători prin transferul grupării amino.*

Scanned with OKEN Scanner

Cetoacizii rezultați în urma reacției sunt oxidați în ciclul acizilor tricarboxilici servind astfel drept sursă de energie. α-Cetoglutaratul/L-glutamat servesc drept pereche de acceptor/donor de grupări amino în reacțiile de transaminare. Specificitatea de substrat a enzimelor derivă din aminoacidul care donează grupărea amino.

Denumirea transaminazelor

Denumirea aminotransferazelor se face în funcție de donorul grupărilor amino, deoarece α-cetoglutaratul servește drept acceptor de grupări amino în toate reacțiile. Exemple: transaminaza GPT (glutamat-piruvat-transaminaza) sau ALAT (alanin aminotransferaza); transaminaza GOT (glutamat-oxalacetat-transaminaza) sau ASAT (aspartataminotransferaza).

Piridoxal-5'-fosfatul și piridoxamin-5'-fosfat sunt coenzime în reacția de transaminare. Piridoxal-5'-fosfatul este legat de apoenzimă, fiind grupare prostetică. Mecanismul de acțiune al acestor enzime presupune transferul unei grupări amino a unui aminoacid la fracțiunea piridoxal a coenzime rezultând în urma acestei reacții piridoxamin-fosfat. Piridoxamin-fosfatul va reacționa ulterior cu un α-cetoacid, în urma acestei reacții se formează un aminoacid, iar piridoxamin-fosfatul revine la forma aldehidică (piridoxal-fosfat.)

Localizare

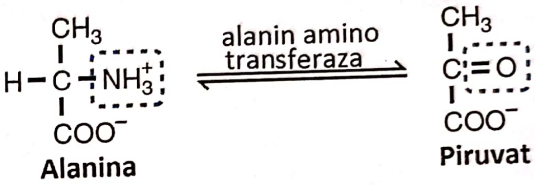
Transaminazele sunt distribuite în multe țesuturi, AST se găsește la nivelul cordului, ficatului, mușchilor scheletici și rinichi. ALT se găsește în principal la nivel hepatic și renal. ALT este o enzimă cu localizare citoplasmatică, iar AST are două izoenzime citoplasmatică și mitocondrială. Izoenzimele au structură dimerică, fiind formate din două subunități peptidice alcătuite din 400 aminoacizi. Aproximativ 5-10% din activitatea serică a AST este determinată de izoenzima mitocondrială.

Semnificație clinică

Alanin aminotransferaza

ALT este distribuită la nivelul multor țesuturi, dar cele mai mari concentrații se găsesc la nivel hepatic. Este considerată enzima cu cea mai mare specificitate hepatică dintre transferaze (Fig.4.23).

Aplicația clinică a determinării acestei enzime o constituie evaluarea afecțiunilor hepatice. Niveluri crescute sunt întânlite mai frecvent în afecțiunile hepatocelulare decât în afecțiunile obtructive extra și intrahepatice. În condițiile inflamației hepatice acute, creșterea ALT este frecvent mai mare decât AST și tinde sa rămână crescută mai mult timp ca rezultat al timpului de înjumătățire mai mare al ALT (16 și 24 de ore, respectiv). ALT se găsește în cantitate mică în țesutul cardiac, dar nivelul acesteia rămâne normal în necroza miocardică (infarctul miocardic) până la apariția leziunilor hepatice secundare infarctului.



Alanina Piruvat

Fig. 4.23 *Dintre transferaze Alanin aminotransferaza (ALT) este considerată enzima cu cea mai mare specificitate hepatică.*

Aspartat aminotransferaza

Aspartat aminotransferaza este o enzimă aparținând clasei transferazelor care catalizează reacția de transfer a unei grupări amino între aspartat și un α-ceto acid, folosind drept coenzimă piridoxal fosfatul (Fig. 4.24). Aspartat aminotransferaza este distribuită la nivelul întregului organism. Cele mai mari concentrații ale acestei enzime se găsesc la nivelul țesutului cardiac, ficatului și mușchiului scheletic și în concentrații mici la nivelul rinichiului, pancreasului și eritrocitelor.

Aplicația clinică a AST este limitată la evaluarea afecțiunilor hepatocelulare și afectarea mușchilor scheletici. În infarctul miocardic nivelul seric al AST începe să crească după 6-8 ore, atinge un maxim la 24 ore, revenind la normal în 5 zile. Datorită ditribuției tisulare variate, nivelul seric al acesteia nu este util în diagnosticul infarctului miocardic. Creșterea AST este frecvent observată în embolismul pulmonar. În afecțiunile cardiace congestive nivelul AST poate fi de asemenea crescut, reflectând probabil implicarea hepatică ca rezultat al fluxului sangvin inadecvat la acest nivel, secundar afecțiunii cardiace. Cele mai mari niveluri ale AST se întânlesc în afecțiunile hepatocelulare. În hepatitele virale, nivelul

Scanned with OKEN Scanner

seric al acesteia poate fi crescut de 100 de ori (ULN).

La pacienţii cu ciroza hepatică apar niveluri moderat crescute, de aproximativ 4ULN. Afecţiunile muşchilor striaţi, cum ar fi distrofiile musculare şi afecţiunile inflamatori se asociază, de asemenea, cu creşterea serică a acestei enzime.

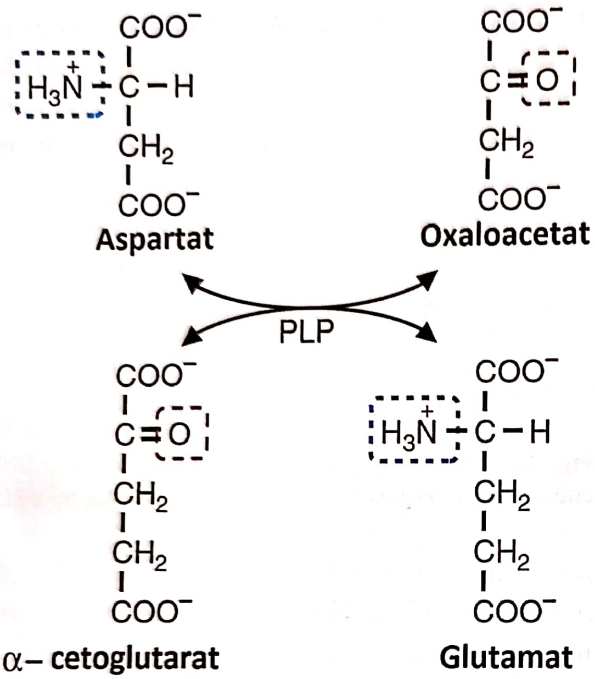


Fig. 4.24 *Aspartat aminotransferaza (AST/GOT) este o enzimă aparţinând clasei transferazelor, care catalizează reacţia de transfer a unei grupări amino între aspartat şi un α-ceto acid, folosind drept coenzimă piridoxal fosfatul.*

În cazul hepatitelor acute medicamentoase tabloul clinic si biochimic este de regulă asemănătoar cu cel al hepatitei acute virale, cu aminotransferaze serice mult crescute, de 10 ori sau mai mult valoarea normală. Cel mai frecvent implicate sunt halotanul, izoniazida, în special asociată cu alte medicamente hepato-toxice, alfa-metil-dopa, dozele mari de paracetamol. În cazul paracetamolului, vârful atins de aminotransferaze poate fi de 85 de ori peste valoarea normală.

Steatohepatita nonalcoolică este o cauză comună a creşteri nivelului seric al aminotransferazelor. Nivelul ALT este tipic mai mare decât AST, această discrepanţa putând rezulta din inhibarea proporţional mai mare a ALT de către etanol. În consecinţă, în steatohepatita de origine alcoolică, predomină creşterea nivelului AST, dar nu peste valori de 300U. Hepatita acută alcoolică este asociată cu niveluri ale AST frecvent crescute. În contrast cu hepatita virală,raportul AST/ALT este de obicei >2.

Deoarece ALT şi AST sunt prezente şi la nivelul altor ţesuturi decât ficatul, nivelurile serice crescute ale acestor enzime se întânlesc şi în *alte afecţiuni cum ar fi infarctul miocardic, infarctul renal, distrofia musculară progresivă, precum şi în afectarea hepatică secundară din mononucleoza infecţiosă, cetoacidoza diabetică şi hipertiroidia.*

Persistenţa unor niveluri crescute la şase luni de la episodul acut constituie un criteriu de diagnostic al afecţiunilor cronice. În formele cronice de hepatită se evidenţiază valori crescute pâna la şapte ori peste valoare normală. ALT poate rămâne crescută la 15%-50% dintre pacienţii cu hepatită virală C. La pacienţii cu hepatită virală C acută, trebuie determinată periodic timp de 1-2 ani ALT pentru a observa dacă revine la valorile normale.

G-glutamiltransferaza

γ-glutamil-transferaza (GGT) catalizează transferul grupărilor γ-glutamil între molecule donoare şi acceptoare. γ-glutamil-transferaza catalizează transferul grupărilor γ-glutamil de pe peptide şi compuşi ce conţin această grupare pe substrate acceptoare (aminoacizi, H_2O şi alte mici peptide)(Fig 4.25). Acestă enzimă acţionează doar asupra peptidelor sau compuşilor peptidici-like care conţin gruparea glutamat în poziţia γ. În cele mai multe sisteme biologice, glutationul serveşte ca donor de grupări γ-glutamil. Enzima catalizeaza o reactie de transpeptidare implicată în metabolismul glutationului: catalizează hidroliza ***γ-glutamilului*** din GSH si transferul său la alt aminoacid sau peptida.

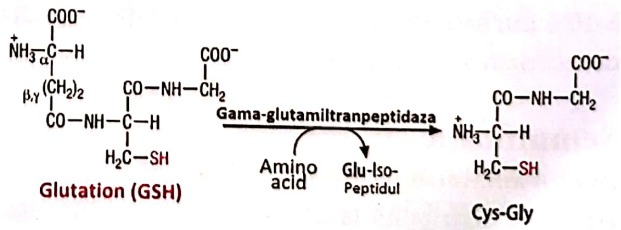


Fig. 4.25. *Gama-glutamil-transferaza catalizează transferul grupărilor γ-glutamil de pe peptide şi compuşi ce conţin această grupare pe substrate acceptoare (aminoacizi, H2O şi alte mici peptide).*

Scanned with OKEN Scanner

GGT este prezentă la nivelul membranei celulare a diverselor celule cu centrul catalitic către fața extracelulară și țesuturi, cum ar fi (în ordinea descrescătoare a frecvenței) tubi contort proximal, ficat, pancreas și intestin, nu se găsește în mușchii scheletici. Enzima are o localizare citoplasmatică (microzomi), dar o fracție importantă este localizată la nivelul membranei celulare, având rol în transportul transmembranar al aminoacizilor sub forma γ-glutamil peptidelor.

La nivel hepatic, GGT este localizată la nivelul celulelor canaliculilor hepatice, în mod particular în celulele epiteliale aparținând ductelor biliare. Datorită acestei localizări, GGT prezintă niveluri serice crescute în afecțiunile hepatobiliare, fiind un marker al acestora. Niveluri serice crescute sunt observate în obstrucția căilor biliare. În parenchimul hepatic, GGT se găsește la nivelul reticulului endoplasmic neted. Fiind o enzimă localizată la nivelul microzomilor hepatici, consumul de alcool și al medicamentelor inductoare enzimatice (barbiturice, antidepresive triciclice și anticonvulsivante) determină creșteri ale nivelului seric al acestei enzime. Este un test sensibil de identificare a colestazei cauzată de consumul cronic de alcool sau administrarea de medicamente. Majoritatea consumatorilor de alcool prezintă valori crescute ale activității serice a enzimei, care rămân crescute 2-3 săptămâni după încetarea consumului. GGT și ALT sunt considerați markeri specifici ai leziunilor hepatice. Timpul de înjumătățire al GGT este de 4 zile.

Valorile serice ale unei singure enzime are rareori o semnificație patologică. Valoarea diagnostică a activității enzimatice crește însă mult când se măsoară simultan mai multe enzime. De exemplu, raportul ALT/AST în ficatul normal este mai mic de 1. În urma unei infecții virale însă, raportul este mai mare decât 1. Aspartat aminotransferaza, AST este de asemenea importantă în diagnosticul unor tulburări cardiace. În urma unui eveniment cardiac, nivelul AST în ser este crescut după 8 ore după evenimentul cardiac și crește în urmatoarele 24 ore.
Enzima revine la valorile normale după 3-7 zile.

Observatie: numai determinarea AST în ser, nu are o valoare diagnostică. Dar împreună cu determinarea a alte două enzime, LDH și CK valoarea diagnostică crește și poate fi folosită pentru determinarea aproximativă a momentului infarctului. În urma unui eveniment cardiac, nivelul LDH in ser este crescut la 1-2 zile post-infarct, atinge un maximum la 2-3 zile după evenimentul cardiac și revine la valorile normale după 5-10 zile. Valoare diagnostică deosebită are raportul dintre LDH-1/LDH-2 care în mod normal este mai mic decât 1. În urma unui infarct miocardic raportul se inversează după 12-24 de ore, fiind crescut la 80% din pacienți după 48 de ore.

Acest aspect este important în diagnosticul diferențial al infarctului miocardic și anginei pectorale (în angina pectorală nivelul LDH nu se modifică). O altă enzimă marker, utilăîn diagnosticul infarctului miocardic este creatinkinaza, izoforma MB (CK-MB), care crește în primele 3-6 ore după infarct atingând nivelul maxim la 12-24 ore (Fig. 4.26).

Alcool dehidrogenaza

Calea majoră de metabolizare a etanolului este realizată cu ajutorul alcooldehidrogenazei(ADH) la nivelul ficatului. ADH catalizează conversia etanolului la acetaldehidă și apoi la acetat printr-o reacție catalizată de aldehiddehidrogenaza. Acetatul este un compus netoxic care este preluat de ciclul Krebs (Fig. 5.27). În acest mod alcool dehidrogenaza (ADH) are rol în dezintoxicarea alcoolică. Consumul excesiv de alcool însă, poate duce la schimbari patologice în structura hepatocitului cauzate de acetaldehida care este un compus extrem de toxic responsabil de inducerea fibroze în urma activării reacției inflamatorii cu eliberare de citokine (TNF-alpha, TGF-beta, PDGF) care la rândul lor stimuleaza proliferarea miofibrocitelor. Miofibrocitele sunt celule contractile care secretă mari cantități de matrice extracelulară, componenta de bază a fibrozei hepatice. Fibroza hepatică poate duce la cancer hepatic (ciroza hepatică).

Mai există un sistem multienzimatic, complex MEOS, (citocrom P450) ce poate metaboliza etanolul la nivelul ficatului. De ce calea preferată este alcooldehidrogenaza?

Scanned with OKEN Scanner

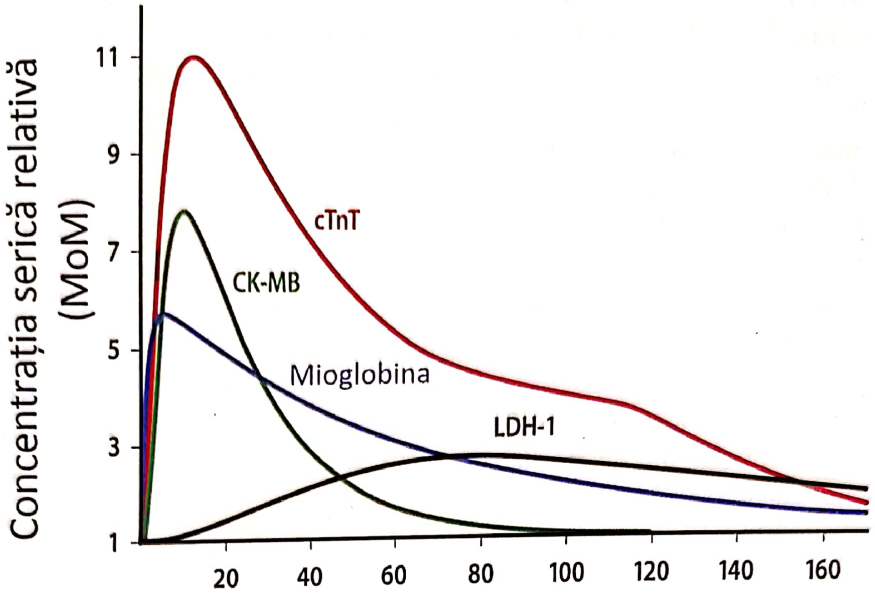


Fig. 4.26 *Determinarea AST, LDH și CK crește siguranta diagnostică și poate fi folosită pentru determinarea aproximativă a momentului infarctului miocardic.*

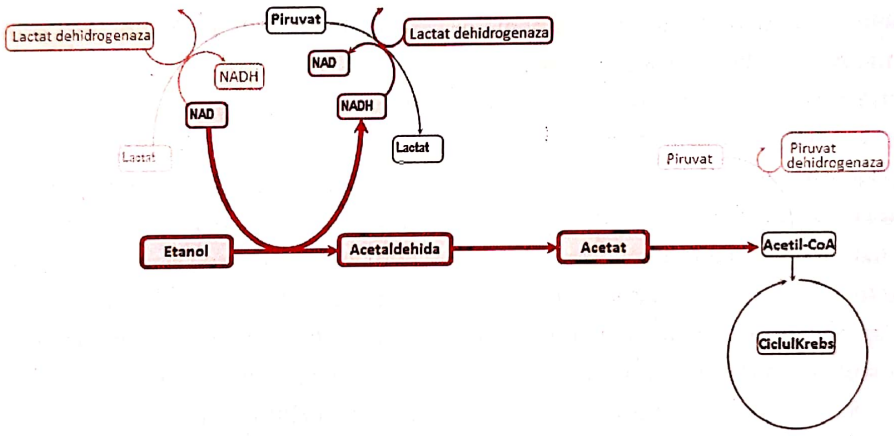


Fig. 4.27 *Alcool dehidrogenaza este enzima care catalizează conversia etanolului la acetaldehida și apoi la acetat printr-o reacție catalizată de aldehiddehidrogenaza. Acetatul este un compus netoxic care este preluat de ciclul Krebs.*

Alcooldehidrogenaza are Km foarte mic pentru etanol (de aprox 0,004mM) și metabolizează alcoolul la concentrații foarte mici ale acestuia în circulația sanguină (în jur de 80 mg/dl). MEOS are Km mare pentru etanol (aprox 11mM), această cale de metabolizare fiind activă la concentrații mari ale etanolului în sânge. Dezavantajul este acela că prin oxidarea etanolului rezultă compuși toxici care duc la leziuni ale ficatului și apariția cirozei hepatice etanolice. O concentrație a etanolului de 250mg/dl este suficientă pentru apariția potențiala a leziunilor hepatice.

Fosfataza alcalină

Fosfataza alcalină aparține clasei hidrolazelor, enzime care scindează diversele substanțe cu legarea apei (scindare hidrolitică). Fosfataza alcalină (ALP) aparține unui grup de enzime care catalizează hidroliza diferiților fosfomonoesteri în condițiile unui pH alcalin. pH-ul optim al reacției prezintă valori cuprinse între 9 și 10, dar acesta poate varia în funcție de substratul folosit. Enzima folosește drept activatori enzimatici, ioni metalici precum Mg^{2+}, Co^{2+} și $Mn2^{+}$, iar drept cofactor folosesc Zn^{2+} (Fig. 4.28)

Scanned with OKEN Scanner

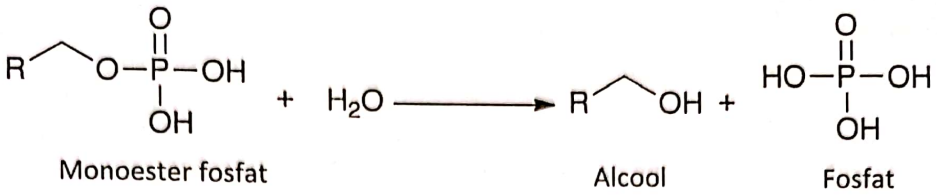


Fig. 4.28 *Fosfataza alcalină (ALP) aparține unui grup de enzime care catalizează hidroliza diferiților fosfomonoesteri în condițiile unui pH alcalin.*

Fosfataza alcalină este prezentă la nivel membranar și pe suprafața celulară în toate țesuturile organismului. Cele mai mari concentrații se găsesc la nivelul intestinului (mucoasa intestinului subțire), ficatului, osului, splinei, placentei și rinichilor (tubi contorți proximali).

La nivel hepatic, enzima este localizată în sinusoidele hepatice și canaliculele biliare, la nivel osos în osteoblaste, celule implicate în producerea matricei osoase. Rolul metabolic al fosfatazei alcaline ar fi transportul intestinal al lipidelor și calcificarea osoasă. Fosfataza alcalină are un timp de înjumătățire de 1-10 zile. Mecanismul eliberării fosfatazei alcaline nu este încă pe deplin înțeles, ar putea fi prin creșterea sintezei, leziunea membranară determinată de acizii biliari, sau solubilizarea enzimelor atașate membranei celulare sub acțiunea acizilor biliari.

Determinarea activității enzimatice a fosfatazei alcaline este importantă în *afecțiunile hepatobiliare și afecțiunile osoase asociate cu creșterea activității osteoblastelor.*

Alte exemple de enzime din ser cu valoare diagnostică: *protrombina* semnalizează tulburări de coagular. *Lipaza pancreatică* semnalizează tulburări de digestie

Patobiochimie

Boli cauzate de defecte în structura enzimelor cu afectarea activității enzimatice sunt numeroase.

Diabetul zaharat de tip adult al tânărului (MODY – maturity onset diabetes of the young) este o formă genetică rară de diabet zaharat al tânărului. Începând din 2004, datorită dezvoltării tehnicilor de inginerie genetică și PCR, s-au evidențiat 6 tipuri de MODY.

Tipul MODY 2 se datorează mutației genetice ce înlocuiește leucina cu prolina în structura părții proteice a glucokinazei pancreatice. Această mutație afectează proprietățile cinetice ale enzimei (Km și Vmax sunt scăzute). În condiții normale, glucokinaza din ficatul sau pancreasul pacientului având un Km mare pentru glucoză (10 mM) permite importul glucozei în ficat și scăderea glicemiei. Dar glucokinaza defectă din ficatul sau pancreasul pacientului are un Vmax de 5-6 ori mai mic, adică se saturează repede cu glucoză. Altfel spus, mutația determină perturbări în schimbările conformaționale ulterioare ale enzimei cu scăderea formării complexului enzima substrat și deci a vitezei de reacție. Consecința este ridicarea nivelului seric al glucozei care rămâne la un nivel seric hiperglicemic.

Numărul de patologii cauzate de deficiențe enzimatice sunt numeroase. Cela mai relevante din punct de vedere clinic vor fi detailate în cadrul metabolismului *Acizilor Nucleici.*

Scanned with OKEN Scanner

5. VITAMINE

În anul 1911, Casimir Funk descoperă o amină cu funcții importante pentru organism, pe care o denumește amina vieții. Astfel el descrie pentru prima dată vitamina B1. Ulterior s-a descoperit că vitaminele sunt compuși organici de origine exogenă (alimentară) cu structuri foarte variate (nu numai amine) care sunt necesari în cantități foarte mici (micronutrienti) și îndeplinesc în organism roluri de biocatalizatori, indispensabili pentru creșterea și dezvoltarea normală a tuturor viețuitoarelor. Acești compuși prezintă o serie de caracteristici comune, și anume:

- sunt compuși organici ce nu pot fi sintetizați de către organism, subiecții fiind dependenți de aportul lor exogen
- nu pot fi utilizați ca substrate energetice, deci nu au valoare calorică
- cu excepția retinolului care intră în structura rodopsinei, celelalte vitamine nu prezintă rol structural în organism
- prezintă numeroase funcții celulare importante: intervin în coagularea sângelui, în procesul vederii, sunt cofactori enzimatici etc.

Deficitul unor vitamine are drept consecință o serie de tulburări metabolice și fiziologice care conduc în final la apariția unor stări patologice caracteristice ce pot fi corectate prin administrarea vitaminei deficitare.

Nomenclatura și clasificarea vitaminelor

Nomenclatura vitaminelor

La început vitaminele au fost denumite prin litere, ulterior, pe măsură ce s-a clarificat structura lor, au apărut și denumirile științifice. Se cunosc până în prezent un număr mare de vitamine notate cu literele alfabetului: A, B, C, D, E etc, în ordinea descoperirii lor. Atunci când pentru o vitamina s-au pus în evidență mai multe forme, acestea au primit un indice numeric: B1, B2, B3, B5, B7, B9, B12, B13

O altă denumire care s-a utilizat în timp, a fost cea legată de acțiunea terapeutică:

- Vit C – vitamina antiscorbutică
- Vit D- antirahitică
- Vit B1 – anti beri-beri
- Vit A – antixeroftalmică
- Vit E - antisterilitate
- Vit K - antihemoragică

Clasificarea vitaminelor

Vitaminele se clasifică în funcție de solubilitate, în două mari grupe:

- **Vitaminele hidrosolubile**
- **Vitaminele liposolubile**

Grupul vitaminelor hidrosolubile cuprinde:

- Vitaminele complexului B – alcătuit din cel puțin 8 vitamine hidrosolubile: tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), piridoxina (B6), acidul pantotenic (B5), biotina, acizii folici și cobalaminele (B12)
- Vitamina C – acidul ascorbic

Caracteristici comune clasei de vitamine hidrosolubile:

- sunt în principal cofactori sau precursori ai cofactorilor unor enzime esențiale pentru metabolismul normal
- se depozitează în organism în cantități mici, se distribuie în lichidul extracelular și se elimină renal, de aceea stările carențiale apar relativ ușor
- nu sunt stocate în organism (exceptie B12) ci sunt eliminate prin rinichi și de aceea nu prezintă toxicitate
- deficiențele se caracterizează prin simptome la nivelul pielii și sistemului nervos și prin tulburări ale procesului de creștere

Rolul vitaminelor în procesele metabolice

Astazi, în era tehnologiei, industriei, a produselor alimentare, pilulelor și poțiunilor, suplimentele cu vitamine sunt considerate esențiale pentru sănăte atât în grupurile medicale cât și în medicina allopată. Dar, rolul vitaminelor în nutriție prezintă încă multe necunoscute. Vitaminele intervin în procesele metabolice sub mai multe forme:

1. intra în structura unor enzime (coenzime) ce catalizează procese metabolice esențiale în organism: vitaminele complexului B, vit A și K

Scanned with OKEN Scanner

2. acționează la nivel celular și molecular asemănându-se cu hormonii: vitaminele A, D, E intervin în sinteza proteinelor (influențează transcripția ADN în ARNm)
3. intervin direct în procesele fiziologice vitale – vit A este implicată direct în procesul vederii, vit K intervin în cascada coagulării
4. intervin în procesele de oxido-reducere (vit. C ,E ,K, ubichinonele)
5. intervin direct în funcția de apărare a organismului (vit C și A)
6. participă la biosinteza nucleoproteinelor în țesuturile cu diviziune celulară rapidă (maduva osoasă, mucoasa intestinală) – acizii folici și vit B12
7. intervin în respirația celulară având și acțiune antioxidantă

Există o serie de compuși denumiți *vitaminoide* sau compuși *vitamin-like* ce nu îndeplinesc funcții enzimatice dar care au fost integrați în trecut în categoria vitaminelor. Din această categorie fac parte:

- Acizi grași esențiali: Vit F
- Ubichinona: CoQ10
- L-carnitina
- Bioflavonoide: rutin
- Colina
- Inozitol
- S-adenozin – metionina: SAM

Conceptul de antivitamine

O antivitamină se poate defini simplu ca fiind: "o substanță care inactivează o vitamina". Descoperirea acestora a deschis un nou capitol în ceea ce privește cercetarea în domeniul nutriției. Aceste substante interferă cu metabolismul vitaminelor (prin inhibiție competitivă sau prin afectarea sistemelor enzimatice sau le distrug. Ipoteza curentă pentru antagonismul competitiv dintre analogii structurali ai vitaminelor și metaboliți este aceea că acești doi compuși intră în competiție pentru legarea la regiunea din structura unei enzime ce participă la o reacție metabolică particulară.

Dacă vitamina se combină cu grupul enzimatic, complexul intră în reacția metabolică normală pentru care sistemul este adaptat. În schimb, dacă analogul structural se leagă de gruparea enzimatică rezultă un complex ce nu poate intra în reacția metabolică normală și care nu este util pentru organism.

O altă ipoteză este aceea că antivitaminele sunt compuși capabili să desfacă vitamina din complexul enzimatic. Mecanismul de acțiune al antivitaminelor nu este nici astăzi în totalitate înțeles. Exemple de antagonisti ai unor vitamine sunt:

1. Antagoniști ai vitaminei A: aspirina, fenobarbitalul, arsenicul și dicumarolul (utilizat pentru a preveni coagularea sângelui) inactivează vitamina A. Aceasta este inactivată și de nitrozamine, compuși formați în stomac prin reacția dintre nitriți și aminele secundare. Uleiul mineral utilizat ca laxativ, absoarbe vitamina A și carotenul.
2. Antagoniști ai vitaminei K Necesarul de vitamină K al organismului este foarte mic iar deficiența se întâlnește rar. Terapia cu antibiotice care suprimă bacteriile intestinale duce la inhibarea sintezei de vitamină K. Warfarina este un anticoagulant ce acționează prin inhibarea sintezei vitaminei K și este utilizată în terapia trombozelor venoase, embolismului pulmonar și fibrilației atriale embolizante.
3. Antagoniști ai vitaminei C: este bine cunoscut faptul că fumul de țigara reduce nivelul vitaminei C, al calciului și fosfatului în organism. Deoarece vitamina C reacționează cu o mare varietate de substanțe străine din organism, putem spune că orice poluant sau medicament poate fi considerat un antagonist al vitaminei C. Dintre cei mai cunoscuți antagoniști ai vitaminei C fac parte: antihistaminicele, barbituricele, atropina, alcoolul.

Metotrexatul este antagonist al acidului folic, utilizat în terapia cancerului iar izoniazida antagonizează acțiunea vitaminei B6.

Necesarul zilnic de vitamine

Depinde de vârsta, dieta, activitatea fizică, intensitatea metabolismului. Poate fi asigurat de un regim alimentar echilibrat și adaptat nevoilor organismului. În principiu, ratia alimentară zilnică trebuie să conțină toate grupele alimentare menționate de piramida nutrițională (Fig. 5.1). Necesarul zilnic de vitamine este mai mare în sarcină și la copii. În aceste situații, ratia alimentară este uneori insuficientă.

Scanned with OKEN Scanner

Figura 5.1 *Necesarul zilnic de vitamine poate fi asigurat de un regim alimentar care să conțină toate grupele alimentare menționate de piramida nutrițională.*

Carența de vitamine

- *Hipovitaminoza* – (carența relativă) este determinată de lipsa parțială a unei vitamine din alimentație
- *Avitaminoza* – (carența absolută) este rezultatul lipsei totale a unei vitamine din alimentație și determină apariția unei stări grave cu manifestări clinice caracteristice

Deficitele vitaminice se pot datora:

- aportului alimentar scăzut (carența de aport)
- tulburări ale absorbției intestinale: gastrită atrofică, sprue (malabsorbție a grăsimilor, a calciului, fierului și vitaminelor liposolubile)
- tratamentului prelungit cu antibiotice, sulfamide orale, contraceptive orale
- necesităților metabolice crescute (stress, hipertiroidism)
- eliminări renale excesive (la bolnavii sub dializă)

Recunoașterea carenței vitaminice se bazează pe existența unor simptome edificatoare:

- *Simptome cutanate*: fotosensibilitate (B1), piele uscată (A), erupție purpurică (C)
- *Simptome la nivelul mucoaselor*: stomatita, limba depapilată (vit B), gingivită (A, C)
- *Simptome osoase:* rahitism, osteomalacie (D)
- *Simptome nervoase:* polinevrită, encefalopatie (vit B, acid folic)
- *Simptome hematologice:* anemie microcitară (B6), macrocitară (B12, acid folic)

Manifestări nespecifice ale carenței vitaminice: inapetență, fatigabilitate, incapacitate de concentrare, iritabilitate, insomnie, depresie.

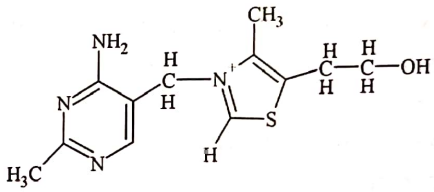
Toxicitatea unor vitamine este datorată supradozării în scop terapeutic și pot da naștere la *hipervitaminoze*. Vitaminele liposolubile se elimină mai greu din organism și de aceea pot fi responsabile de apariția fenomenelor toxice.

Vitaminele hidrosolubile

Vitaminele complexului B

1. Tiamina (Vitamina B1) : este numită și vitamina *antiberiberică* sau antinevritică sau *tiamină*, datorită prezenței în structura sa a sulfului și a unor grupări amino. Prezintă în structura sa un nucleu pirimidinic și unul tiazolic (Fig. 5.2)

Tiamina (Vitamina B_1)



Tiaminpirofosfat (TPP)

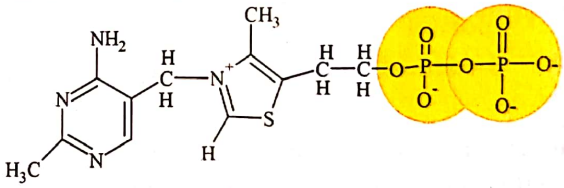


Figura 5.2 *Tiamina (vitamina antiberiberică) prezintă în structura sa sulf, grupări amino precum și un nucleu pirimidinic și unul tiazolic.*

Surse: este sintetizată de alge, vegetale și unele ciuperci. Se găsește în cantitate mare în carnea de porc, ficat, rinichi, în făina de cereale integrale și gălbenușul de ou.

Necesarul zilnic: adult 1,1 -1,2 mg

Acest necesar zilnic este acoperit în mod normal de rația alimentară. Alimentația bogată în glucide necesită un aport crescut de tiamina (0,4 -0,5 mg/ 1000 cal). Excesul de glucide și alcool se comportă ca antivitamine. Absorbția digestivă a tiaminei are loc la nivelul mucoasei intestinale prin transport activ dependent de sodiu. La nivelul mucoasei intestinale este transformată în forma sa activă în organism: tiaminpirofosfatul (TPP).

Scanned with OKEN Scanner

TPP are rol de coenzimă, intervenind în numeroase procese importante pentru metabolismul glucidic: decarboxilarea oxidativă a piruvatului şi a acidului alfa-cetoglutaric, calea pentozo-fosfatilor etc.
Intervine şi în metabolismul lipidic (sinteza de acizi graşi) din glucide, în conducerea axonală şi transmisia neuro-musculară.

Patobiochimie

Deficitul apare în condiţiile unui aport scăzut, asociat cu un consum crescut de glucide sau necesar metabolic ridicat. *Alcoolismul cronic este însoţit de policarenţa vitaminică B cu predominenţa tiaminei.*
Avitaminoza B1 – beri – beri se manifestă prin:

- *manifestări generale*: astenie, anorexie
- *neuro-musculare*: parestezii, nevrite periferice, abolirea reflexelor tendinoase
- *Cardiace*: dispnee, tahicardie, palpitaţii, modificări EKG
- *Psihice:* tulburări de memorie, confuzii
- *Modificări biochimice:* scade cantitatea de tiamină în urină, creşte concentraţia alfa cetoglutaratului şi piruvatului în sânge, scade concentraţia vitaminei la nivel eritrocitar ceea ce se poate cuantifica prin determinarea activităţii transcatalazei ce este activată de TPP şi intervine în calea pentozofosfaţilor
- *Encefalopatia Wernicke:* (alcoolicii cronici) dezorientare, amnezie, confuzie, tulburări de echilibru, ataxie şi se întânleşte îndeosebi la alcoolici (Fig. 6.3).
- *Psihoza Korsakoff:* dezorientare şi amnezie

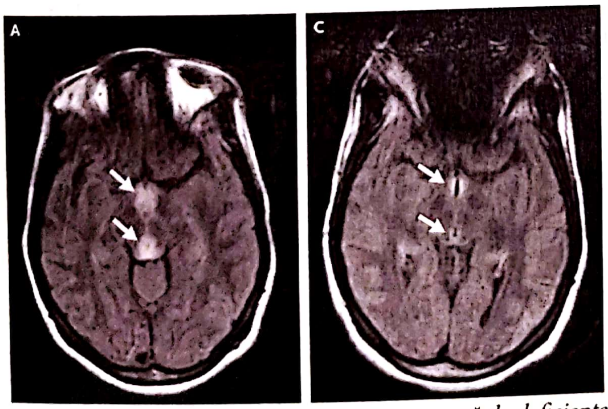


Figura 5.3. *Encefalopatia Wernicke este cauzată de deficienţa de vitamina B1 şi se manifestă prin dezorientare, amnezie, confuzie, tulburări de echilibru, ataxie. În imagini RMN este caracterizată de inflamaţia corpilor mamilari (A, săgeţi) şi se poate trata cu tiamina (B).*

Riboflavina (Vitamina B2): are structură flavinică (de la cuvântul latin flavus = galben)(Fig. 5.4).

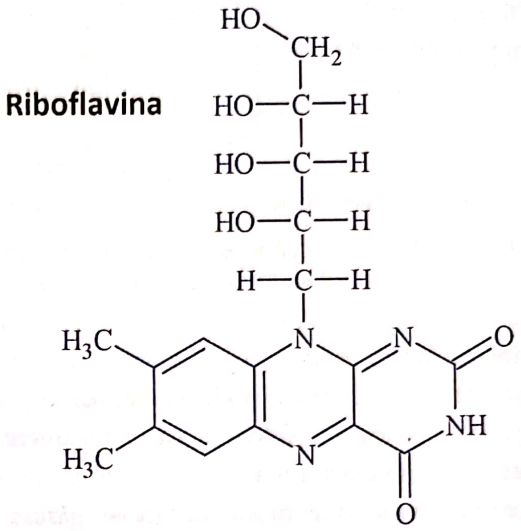


Figura 5.4 *Riboflavina (Vitamina B2) are structură flavinică.*

Surse: Cea mai bogată sursă de riboflavină este drojdia de bere, iar alimente ca ficatul, rinichiul, lactatele, ouăle, muşchiul de vită şi porc asigură un aport vitaminic important.
Necesar zilnic: 1,2 – 1,7 mg/zi
Acest necesar este asigurat de raţia alimentară, el este crescut în timpul sarcinii şi alăptării (1,6-2mg).
Riboflavina se absoarbe la nivelul intestinului cu ajutorul unui mecanism de transport specific.
În organism este transformată în formele active: flavinmononucleotid (FMN) şi apoi flavinadenindinucleotid (FAD), prin fosforilare cu ajutorul ATP.

Formele active sunt coenzime pentru oxidaze şi dehidrogenaze, enzime ce catalizează în organism reacţiile de oxidoreducere.

Carenţa în vitamina B2 se manifestă prin leziuni cutanate şi mucoase, stomatită angulară, cheilită (inflamarea şi fisurarea colţurilor gurii), glosodinie (sensibilitatea dureroasă a limbii), limba magenta (limba devine roşie purpurie şi foarte dilatată), oboseală vizuală, fotofobie (Fig. 5.5).

Scanned with OKEN Scanner

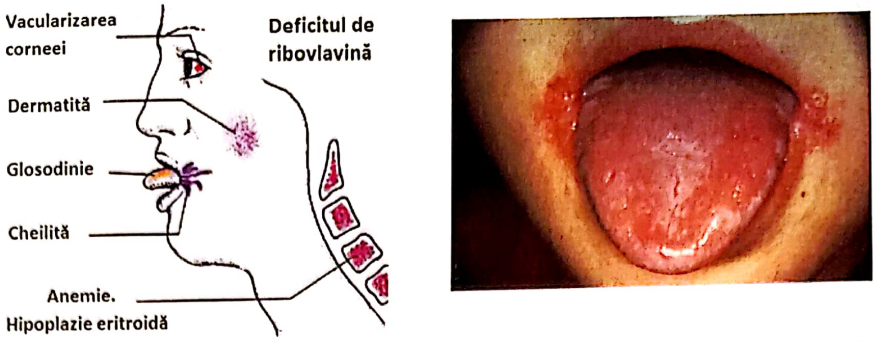


Figura 5.5 *Deficiența de riboflavină se manifestă, printre altele, prin limba magenta (limba devine roșie purpurie și marită).*

Piridoxina (Vitamina B6)

Grupul vitaminelor B6 cuprinde 3 compuși:

- piridoxina, care se folosește ca medicament și care intră în constituția plantelor,
- piridoxamina și piridoxalul care se găsesc în special în alimentele de origine animală

Surse vegetale: drojdia de bere, tărâța de orez, boabele de cereale
Surse animale: ficatul, carnea, peștele, laptele, gălbenușul de ou
Necesarul zilnic: **1,3 -1,7 mg/zi**
Necesarul zilnic este mai mare în suprasolicitare (creștere, sarcină, convalescenta) și la vârstnici.
Vitaminele B6 se absorb la nivelul intestinului și se transformă în organism în **piridoxal fosfat** (forma activă) prin fosforilare sub acțiunea piridoxalkinazei.

Piridoxal fosfatul (PLP, PALPO) este o coenzimă cheie în metabolismul aminoacizilor, participând la peste 40 de reacții. Dintre acestea fac parte reacțiile de decarboxilare, transaminare, metabolismul triptofanului, al tioaminoacizilor etc.
Este de asemenea necesară pentru sinteza diferiților transmițători (noradrenalina), neuromodulatori (GABA, serotonina, dopamina), dar și pentru sinteza lipidelor complexe din structura mielinei.
Datorită acestor acțiuni multiple asigură funcționarea normală a unor țesuturi și organe, creșterea și dezvoltarea organismelor tinere, integritatea tegumentelor și buna funcționare a sistemului nervos.

Vitaminele B6 se *elimină prin urină* sub forma unui metabolit al piridoxalului, *acidul 4-piridoxic*.

Patobiochimie

Datorită prezenței acestei vitamine într-un număr relativ mare de produse alimentare, manifestări patologice datorate deficienței de vitamina B6 sunt *rar întâlnite*, dar pot apărea în special la alcoolici și la femeile gravide.
În tratamentul tuberculozei se administrează izoniazida (HIN) care acționează ca antivitamină. Izoniazida (hidrazida acidului izonicotinic), uzual utilizată în tratamentul tuberculozei, reacționează cu B6, cu care formează un derivat hidrazonic care inhibă enzimele ce conțin piridoxal-5-fosfat. Pacienții tratați mult timp cu izoniazidă, dezvoltă o neuropatie periferică care răspunde foarte bine la terapia cu B6. Pacienții tratați cu penicilină, dezvoltă ocazional convulsii care pot fi prevenite prin tratament cu vitamina B6.

Carența de vitamina B6 se manifestă prin tulburări ale metabolismului nervos (prin scăderea GABA în creier), dermatoze, anemie (prin deficit al acidului delta aminolevulinic, precursor al porfirinelor), distrofii musculare, nevrite, anemii etc. Tabloul biochimic specific este reprezentat de:

- creșterea eliminării urinare de acid xanturenic ca urmare a inactivării kinunerinazei și supraîncărcării cu triptofan
- scăderea concentrației piridoxalfosfatului în sânge
- scăderea eliminării urinare de acid piridoxic și piridoxal

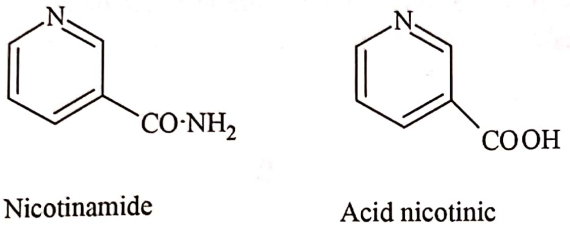
În deficitele genetice se poate întâlni o afinitate scăzută a enzimelor față de piridoxal fosfat. De aceea este necesară o cantitate mai mare de piridoxal fosfat pentru ca acesta să se poata lega la enzimă.

Scanned with OKEN Scanner

Din acest motiv dieta devine insuficientă şi necesită un aport suplimentar. Se caracterizează prin: anemie hipocromă macrocitară, convulsii generalizate (în special la sugari), cistationurie. Contraceptivele orale pot provoca deficienţe minore de vitamine B6.

Acidul nicotinic şi nicotinamidă

Sunt compuşi cunoscuţi sub denumirea de vitamina PP (Fig. 5.6) folosite pentru tratamentul şi prevenirea pelagrei.



Nicotinamide Acid nicotinic

Figura 5.6 *Acidul nicotinic şi nicotinamida sunt compuşi cunoscuţi sub denumirea de vitamina PP şi sunt folosite pentru tratamentul şi prevenirea pelagrei.*

Surse: este conţinut în cantitate mare în carne, legume şi cereale, nefiind inactivat prin fierberea alimentelor.

Necesarul zilnic: adult 14-16 mg

Necesarul este crescut în funcţie de nevoile energetice ale organismului (creştere, sarcina, convalescenţa, efort fizic).

Acidul nicotinic se absoarbe în intestin şi este transformat în organism în formele active biologic: *nicotinamid adenin dinucleotid (NAD)* şi *nicotinamid adenin dinucleotid fosfat (NADP)* care sunt coenzime pentru enzimele din procesul de respiraţie celulară (Fig. 5.7).

Patobiochimie

Deficitul de acid nicotinic (vitamina PP) se manifestă prin pelagra (Fig. 5.8) şi sunt determinate de carenţa de acid nicotinic şi triptofan (pelagra primară). În plus pot apărea tulburări metabolice care împiedică formarea coenzimelor corespunzatoare. Deficienţe mai pot apărea consumul sau eliminarea excesivă a vitaminei. În ţările dezvoltate pelagra primară a fost eradicată. Forma secundară apare în special la alcoolici, hipertiroidieni, în sindroamele de malabsorbţie sau tumori. Deficitul de triptofan poate duce la scăderea sintezei acidului nicotinic şi este cunoscută sub numele de „maladia celor patru D":

- **dermatită**: pigmentaţie brună, tegumente aspre cu eritem, mai ales în locurile expuse razelor solare;
- **tulburări digestive**: stomatită, gastrită, enterită;
- **tulburări nervoase**: delir, demenţă, halucinaţii;
- **moarte** (death - în limba engleză).

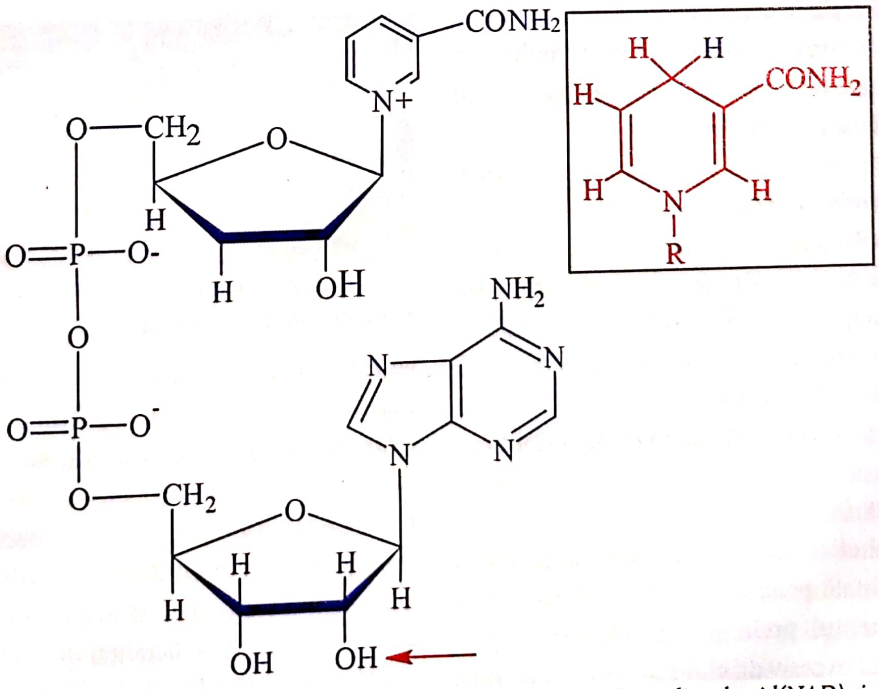


Figura 5.7 *Formele active ale acidul nicotinic sunt nicotinamid adenin dinucleotid(NAD) şi nicotinamid adenin dinucleotid fosfat (NADP) care sunt şi coenzime.*

Scanned with OKEN Scanner

Figura 5.8 *Deficitul de acid nicotinic (vitamina PP) cauzează pelagra care se manifestă prin dermatită, tulburări digestive, tulburări nervoase care pot culmina cu moartea individului.*

de biotină, conduce la tulburări, ca: oboseală, lipsa poftei de mâncare, schimbări în EKG, alopecie (Fig. 5.10).

Acidul pantotenic (**vitamina B5**) este o vitamină larg răspândită în alimentele de origine animală și vegetală. Din acest motiv deficiența se întâlnește rar. Acidul pantotenic este inclus în organism, în coenzima A (CoA) necesară în reacțiile grupărilor acetil importante din metabolismul glucidelor, lipidelor, proteinelor și porfirinelor (Fig. 6.11). Datorită prezenței acestei vitamine într-un număr relativ mare de produse alimentare, manifestări patologice datorate deficienței de acid pantotenic nu se cunosc.

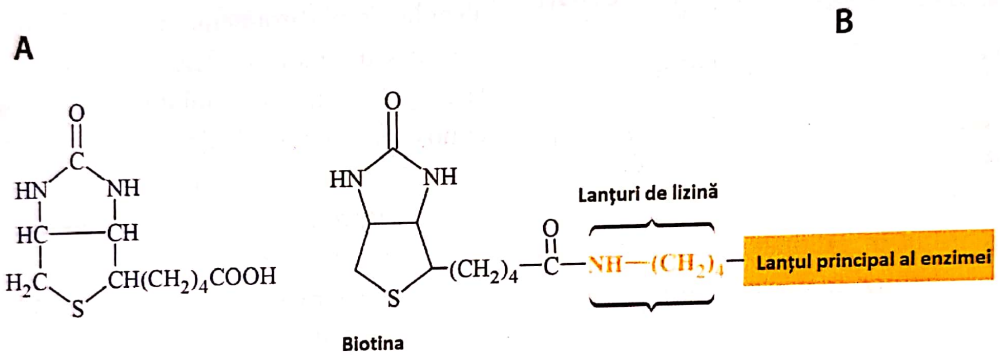


Figura 5.9 *Forma biologic activă a biotinei este carboxibiotina care îndeplinește funcția de coenzimă în reacții enzimatice care implică transferul grupări carboxil pe un substrat.*

Biotina și acidul pantotenic

Biotina: este o vitamina pentru om și animalele superioare, fiind un factor de creștere pentru drojdii, ciuperci și bacterii (Fig. 5.9).

Surse: produse vegetale (ridichii, cereale), în unele produse animale (gălbenuș de ou, ficat).

Necesar zilnic: 10 μg/zi

Forma biologic activă este cea de **carboxibiotina** (Fig. 5.9). Principala funcție biochimică a biotinei constă în rolul ei de coenzima în diferite sisteme enzimatice, care au rol esențial și specific în procesele de carboxilare, în metabolismul glucidic și lipidic.

Patobiochimie

Tulburări metabolice sunt rare pentru că bacteriile din flora intestinală produc suficientă biotină. Dar, evident, tratamentul prelungit cu antibiotice precum și consumul excesiv de albuș de ou care conține glicoproteina *avidină* care are mare afinitate față

Figura 5.10 *Deficiența de biotină poate duce la oboseală, lipsa poftei de mâncare, schimbări în EKG, alopecie.*

Carența de acid pantotenic indusă experimental se manifestă prin tulburări neurologice (parestezii, cefalee, oboseală) și tulburări digestive (greața, vomă).

La om nu au fost descrise stări specifice spontane, se presupune însă că sindromul "burning feet" caracterizat prin leziuni ale rădăcinilor medulare posterioare, să fie datorat deficienței de acid pantotenic.

Scanned with OKEN Scanner

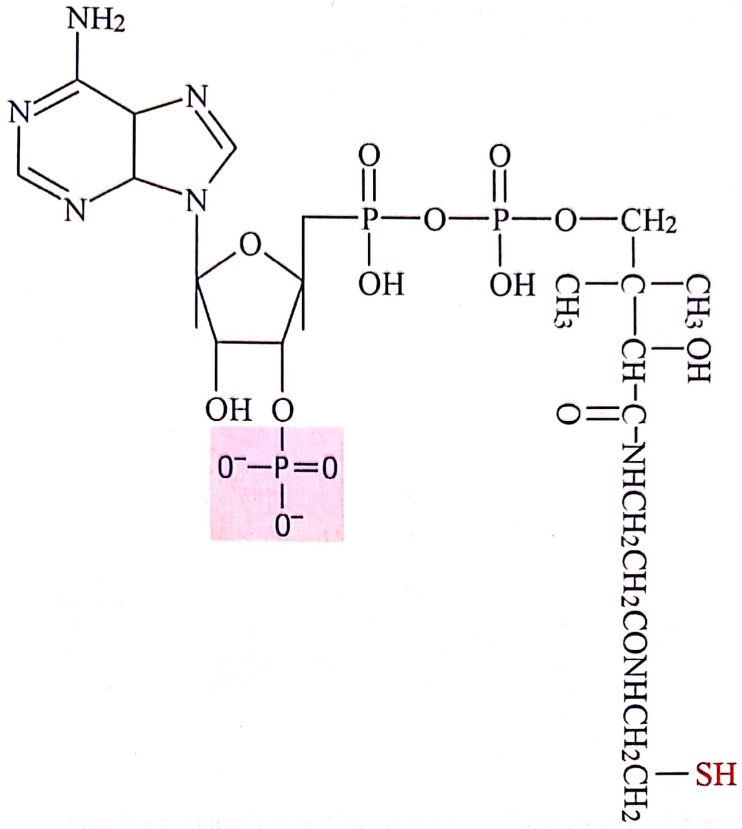


Figura 5.11 *Acidul pantotenic (vitamina B5) este parte din coenzima A (CoA) necesară în reacțiile grupărilor acetil.*

Ciancobalamina (Vitamina B12) și Acidul folic

Cobalaminele și acidul folic sunt indispensabile pentru sinteza normală a ADN, pentru creșterea și dezvoltarea normală celulară. Deficitul acestor vitamine din grupul B se traduce printr-o maturare timpurie și diviziunea deficitară a celulelor afectate. Ca tablou biochimic întâlnim o creștere a raportului ARN/ADN. Modificări evidente apar în țesuturile cu viteză ridicată de diviziune (epiteliul intestinal, măduva hematopoetică).

Ciancobalamina (vitamina B12)

Această vitamină este alcătuită din 4 nuclee pirolice și un atom de cobalt (Fig. 6.12).Termenul de vitamina B12 înglobează un grup de vitamine înrudite (cobalamine): *5'-dezoxiadenozilcobalamina; metilcobalamina* (formele active la nivel celular); *ciancobalamina și hidroxocobalamina* care sunt forme stabile folosite în scop terapeutic. Cobalamina funcționează ca receptor de grupări metil formând metilcobalamina, în reacția de transformare a metiltetrahidrofolatului în tetrahidrofolat, ce contribuie la sinteza timidilatului din dezoxiuridilat (reacție importantă în sinteza ADN). 5-dezoxiadenozilcobalamina catalizează reacția de formare a succinil CoA din metilmalonilCoA, reacție importantă în sinteza acizilor grasi indispensabili stabilității membranelor celulare și formarea tecilor de mielină. Participă și în sinteza ADN și a proteinelor, în cursul eritropoezei (formarea, maturarea și dezvoltarea eritrocitelor).

Surse: exclusiv în produsele de origine animală: carne, ouă, lapte

Necesar zilnic: 2-3 μg/zi

Antivitamine B12: medicamente care scad aciditatea gastrică (ranitidina, omeprazol), hipoglicemiante orale, hipolipemiante, antibiotice. La nivelul stomacului, vitamina B12 (*factor extrinsec*) necesită eliberarea din complexul proteic sub acțiunea acidului clorhidric, precum și legarea de o proteină secretată de celulele fundice gastrice (factor intrinsec) cu rol de transport.

Scanned with OKEN Scanner

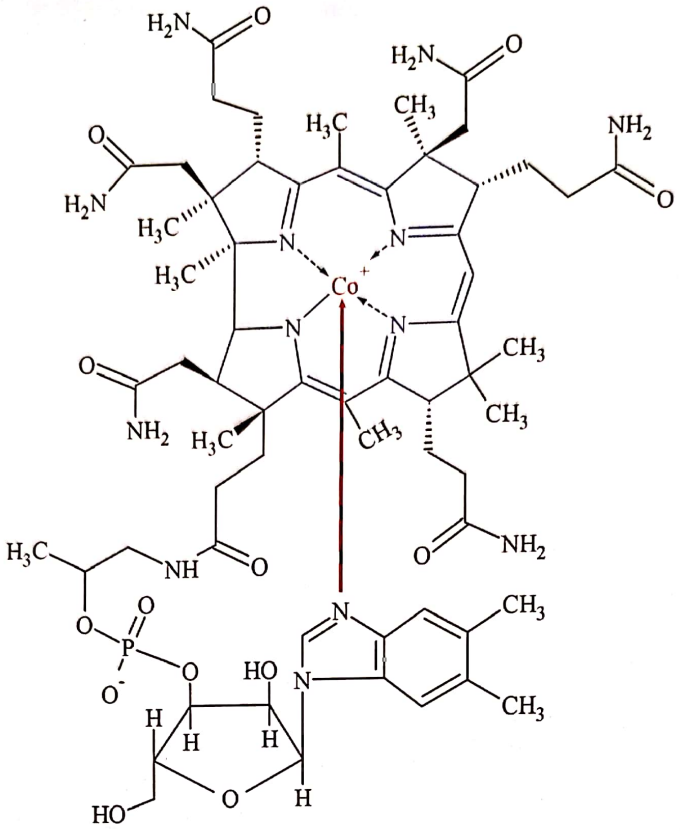


Figura 5.12 *Ciancobalamina (vitamina B12) este alcătuită din 4 nuclee pirolice și un atom de cobalt coordinat.*

La nivelul ileonului, acest complex este absorbit cu ajutorul unui mecanism de transport.

După absorbție, vit B12 este preluată de proteine plasmatice transportoare, *transcobalamine (I și II).* Vitamina B12 este depozitată la nivelul ficatului și eliberată în intestin prin bilă. Este singura dintre vitaminele hidrosolubile care se depozitează în organism, ficatul conținând depozite suficiente pentru aproximativ 5 ani.

Patobiochimie

Deficitul de vitamina B12 este relativ rar, cauza principală fiind reprezentată de lipsa factorului intrinsec datorată incapacității mucoasei gastrice de a îl produce (la bolnavii gastrectomizați sau în anemia pernicioasă).

Deficiența poate să apară și în sindroamele de malabsorbție a ileonului (boala celiacă, steatoree) sau în absența congenitală a transcobalaminei II (Fig. 5.13). Există și defecte genetice rare ale vitaminei B12, cum ar fi aciduria metil-malonică congenitală.

Deficitul în vitamină B12 determină apariția anemiei megaloblastice care prezintă aceleași caracteristici cu anemia provocată prin deficit de acid folic (Fig. 5.14). Dereglările neurologice corelate cu deficiențe în vitamina B12 sunt determinate de demielinizarea țesutului nervos.

Acidul folic *(acidul pteroilglutamic)* este format dintr-un rest pteridinic, acidul aminobenzoic și un rest de glutamat. Forma activă a acidului folic este tetrahidrofolatul format prin reducerea folatului (Fig. 5.15A).

Funcția biochimică principală este transferul de grupări: a) metil; (b) formimino; (c) formil; (d) metilene; (e) metenil (Fig. 5.15B).

Acidul folic este foarte important pentru creșterea și diviziunea celulară de aici și deficiențele care apar în sânge din cauza tulburării hematopoiezei. Această proprietate poate fi folosită și în scop terapeutic și anume prin inhibiția dihidrofolatreductazei de către

Scanned with OKEN Scanner

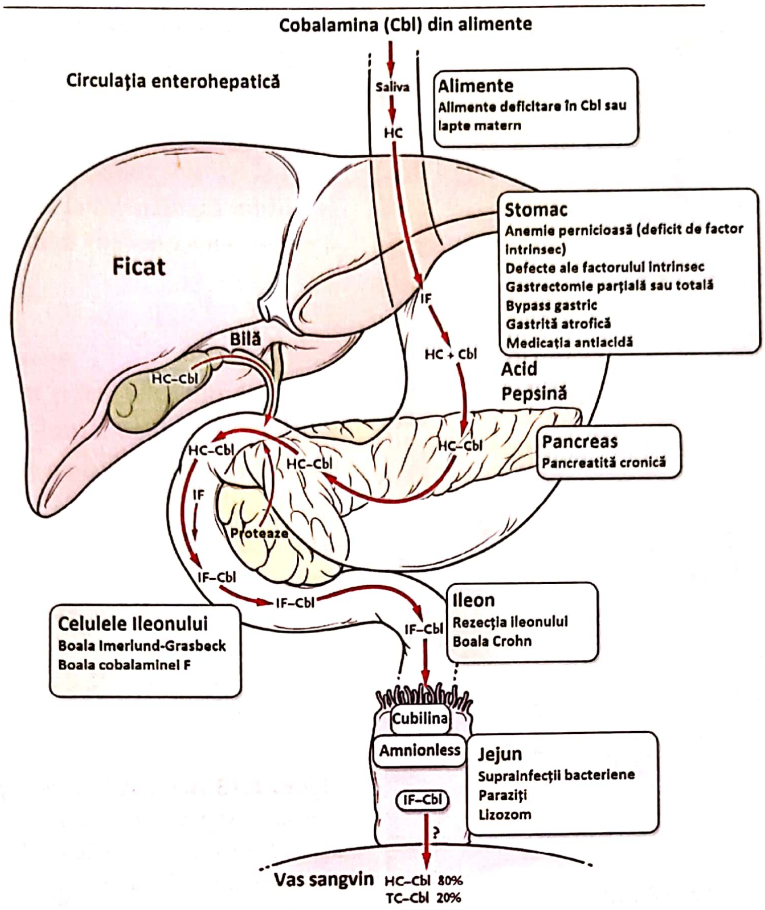


Figura 5.13 *Vitamina B12 este eliberată din hrana în stomac unde se leagă de haptocorrin de unde este transportată în duoden. În duoden, proteazele pancreatice digeră haptocorrin (HC) eliberând din nou vitamina B12 care se leagă de factorul intrinsic (IF). Complexul IF-Cbl se leagă de un receptor specific din ileum, este internalizat și transportă în sânge (Stabler, NEJ relativ rar, cauza principală fiind reprezentată de lipsa factorului intrinsec datorată incapacității mucoasei gastrice de a îl produce (la bolnavii gastrectomizați sau în anemia pernicioasă). Deficiența poate să apară și în sindroamele de malabsorbție a ileonului (boala celiacă, steatoree) sau în absența congenitală a transcobalaminei II.*

Amethopterin (Methotrexat) se realizează inhibiția diviziunii celulelor canceroase (cancer de sân, tumori de vezică, osteosarcoame). Similar, agenți patogeni care realizează sinteza acidului folic din acid p-aminobenzoic pot fi opriți din creștere cu sulfonamide care acționează ca inhibitor competitiv. (*veti Cap. Enzime*).

Sursa alimentară: ficat, legume proaspete nefierte.
Necesar zilnic: 150-200 µg/zi
Absorbția acidului folic are loc la nivelul duodenului și jejunului incipient. Aportul alimentar limitat comparativ cu cerințele mari ale organismului, explică frecvența crescută a stărilor de deficit de acid folic.

Patobiochimie

Carența de acid folic se manifestă prin: anemie megaloblastică, cu scăderea folaților serici și eritrocitari (diagnostic diferențial cu deficitul de vitamina B12) și apare în: ciroza alcoolică, anemie hemolitică sau cancer evolutiv, sarcină, alăptare, sindroame de malabsorbție (Fig. 5.13). Tratamentul prelungit cu fenobarbital poate duce de asemenea la carență, prin inducția sistemului enzimatic care consumă acid folic.

Acidul Ascorbic (Vitamina C)

Este un compus organic acid (Fig. 5.16) numit și vitamina antiscorbutică deoarece vindecă boala numită scorbut caracterizată prin sângerări, oboseală musculară, dificultate în vindecarea rănilor,

Scanned with OKEN Scanner

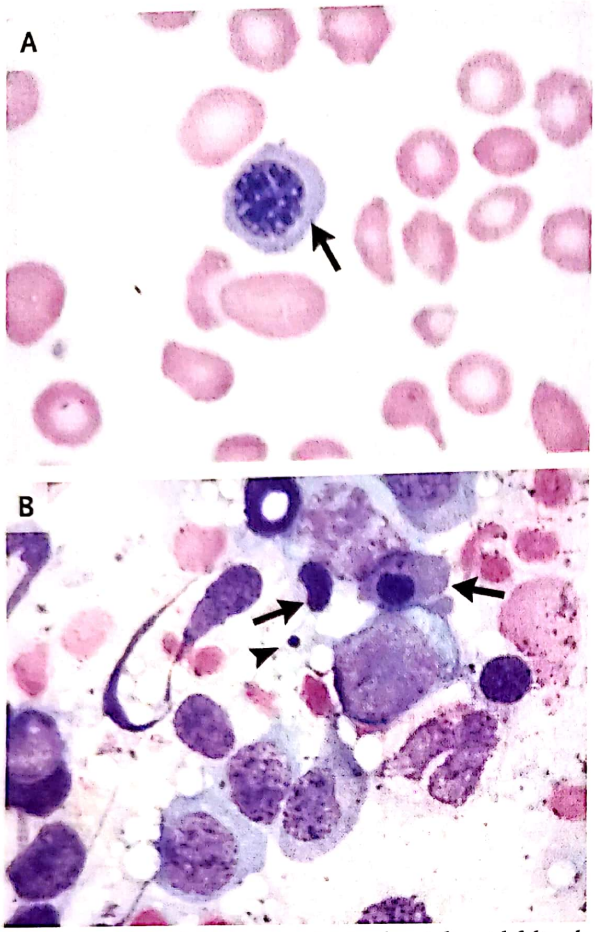


Figura 5.14 *Deficitul în vitamină B12 dar și de acid folic, determină apariția anemiei megaloblastice (A, frotiu din sânge periferic cu macrocite ovale și un megaloblast-săgeata). Imaginea din B arată un frotiu din aspirat de măduvă cu multe megaloblaste (Adaptat după John W. Ryder, University of Colorado).*

hemoragie, osteoporoză, anemie.

Sursa: în special legume și fructe proaspete (lămâi, portocale, mandarine, măceșe, coacaze, mărar, ardei rosu, spanac, ceapă).

Necesar zilnic: este variabil în funcție de vâstă și starea fiziopatologică. Există numeroase controverse privind aportul zilnic de vit C (1g/zi, 3g/zi, 6-12g/zi). Alimentele au conținut ridicat în acid ascorbic și dehidroascorbic însă majoritatea organismelor vegetale superioare și animale sunt capabile să sintetizeze acidul ascorbic pornind de la acid glucuronic sau galactonic (derivați de la glucoză). *Omul, primatele și cobaiul nu posedă gluconolactonoxidaza, enzima implicată în sinteza acidului ascorbic și din acest motiv sunt dependente de aportul exogen.*

Rolul biologic al vitaminei C este multiplu:

- acidul ascorbic și acidul dehidroascorbic formează un cuplu ce funcționează ca sistem redox

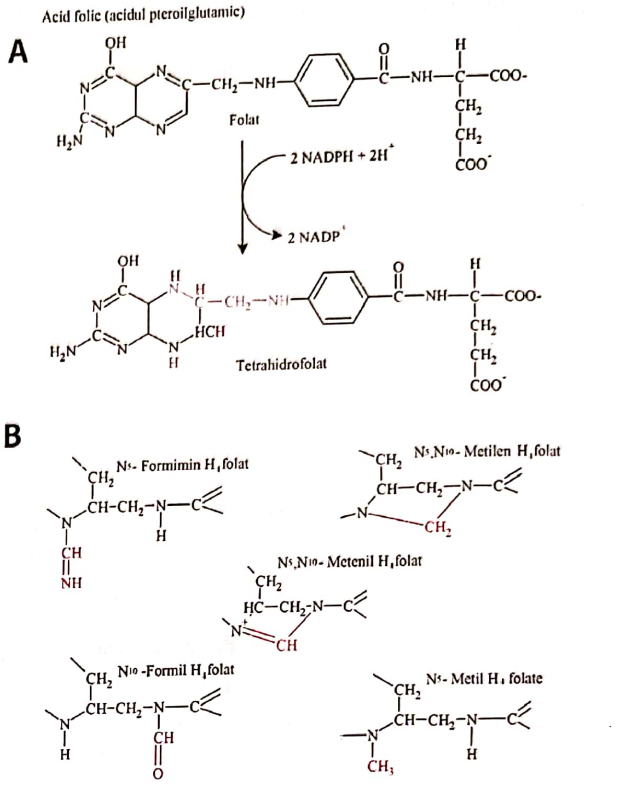


Figura 6.15 *Acidul folic (acidul pteroilglutamic) este format dintr-un rest pteridinic, acidul aminobenzoic și un rest de glutamat. Forma activă a acidului folic este tetrahidrofolatul format prin reducerea folatului (A). Funcția biochimică principală este transferul de grupări: a) metil; formimino; formil; metilene; metenil (B).*

reversibil intervenind într-o serie de procese anti-oxidative din organism (Fig. 5.17).

- intervine astfel în protecția cardiovasculară, prin inhibarea eliberării mediatorilor proinflamatorii
- intervine în sinteza colagenului, a catecolaminelor, a acizilor biliari, a carnitinei care sunt indispensabili sintezei acizilor grasi
- este cofactor în hidroxilarea prolinei din molecula de colagen și implicit are rol în menținerea țesutului conjunctiv, vindecarea rănilor, metabolismul oaselor (Fig 5.18)

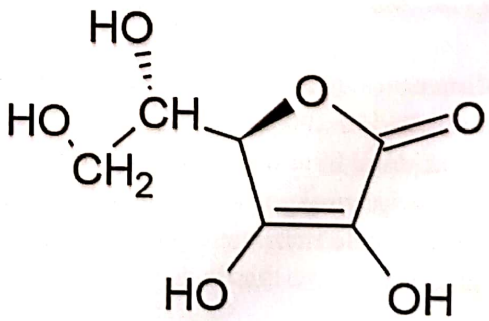


Figura 5.16 *Acidul Ascorbic (Vitamina C) este un compus organic acid numit și vitamina antiscorbutică.*

Scanned with OKEN Scanner

- participă la transformarea dopaminei în noradrenalină și a triptofanului în hidroxitriptofan, în metabolismul tirozinei (formarea acidului homogentizic)
- participă la sinteza hormonilor steroizi la nivelul corticosuprarenalei și favorizează aminarea unor hormoni peptidici (vasopresina, oxitocina, colecistokinina)

Patobiochimie

Lipsa legumelor proaspete și fructelor din dietă determină apariția în 4-5 luni a unei boli carențiale numită *scorbut*. Boala se manifestă prin: afecțiuni ale gingiilor (gingivită) cu edeme și hemoragii, tulburări ale dentiției, hiperkeratoza foliculară, hematoame (musculare, articulare), osteoporoză, anemie și întârziere în vindecarea plăgilor (Fig. 5.19). Această afecțiune este rară în prezent. Bătrânii, consumatorii cronici de alcool și cei hrăniți parenteral necorespunzator pot prezenta manifestări ale scorbutului. Tulburările metabolice esențiale în scorbut sunt legate de afectarea sintezei colagenului prin deficit al hidroxilării prolinei sau alterarea mecanismelor de reglare. Anemia se datorează scăderii absorbției fierului și tulburării ale metabolismului acidului folic.

Vitamine liposolubile

Din această clasă fac parte: vitamina A (Retinol); vitamina D (colecalciferol); vitamina E (Tocoferol); vitaminele K (naftochinone).

Caracteristici generale ale clasei:

- sunt insolubile în apă (hidrofobe, apolare) dar solubile în solvenți organici

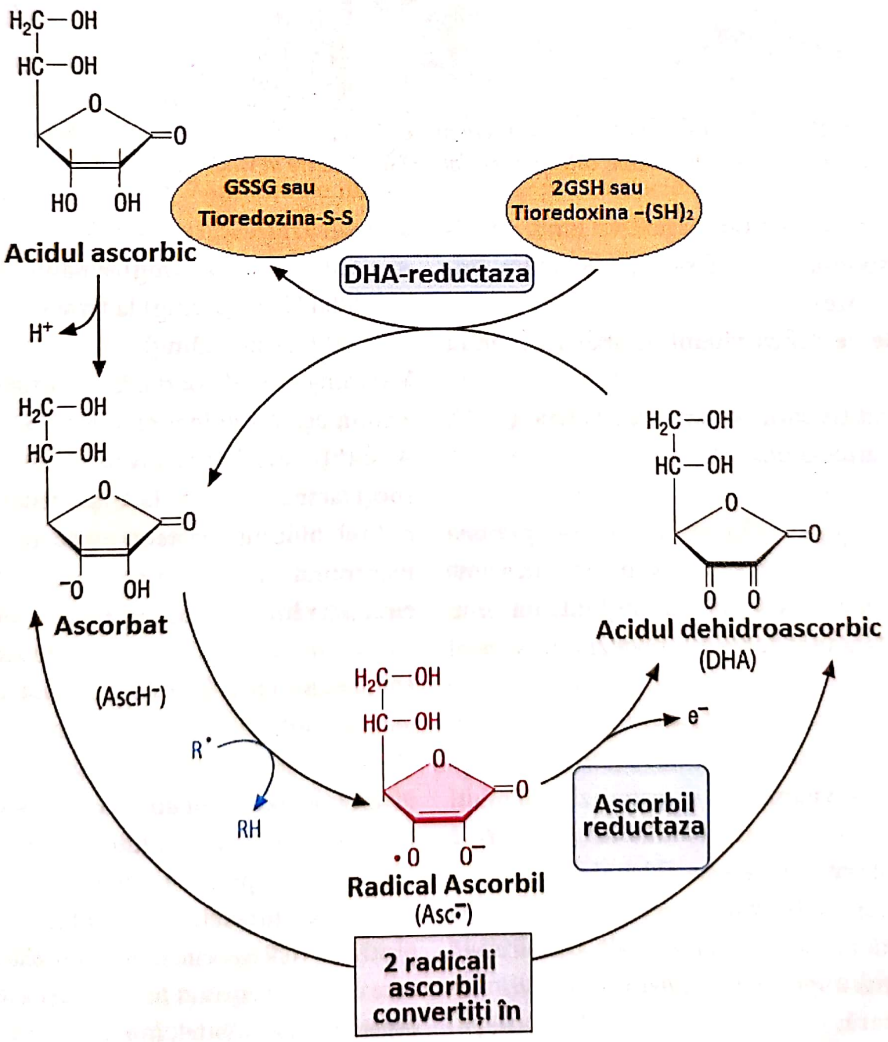


Figura 5.17 *Acidul ascorbic și acidul dehidroascorbic formează un cuplu ce funcționează ca sistem redox reversibil intervenind într-o serie de procese anti-oxidative din organism.*

Scanned with OKEN Scanner

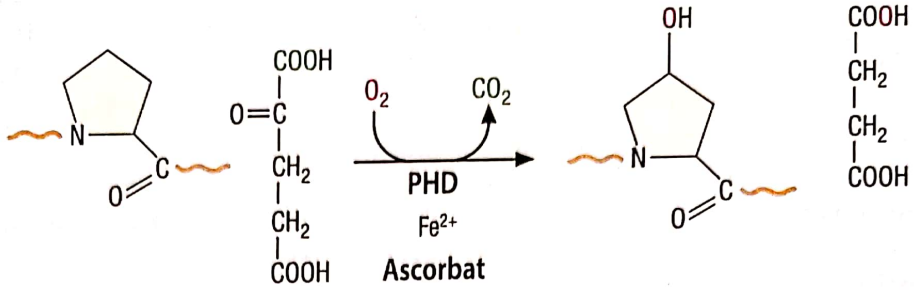


Figura 5.18 *Acidul Ascorbic este cofactor în hidroxilarea prolinei din molecula de colagen și implicit are rol în menținerea țesutului conjunctiv, vindecarea rănilor, metabolismul oaselor*

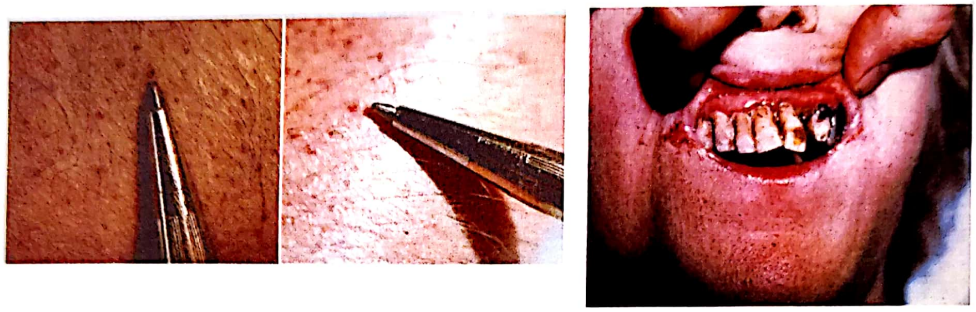


Figura 5.19 *Scorbutul se manifestă prin: afecțiuni ale gingiilor (gingivită) cu edeme și hemoragii, tulburări ale dentiției, hematoame, osteoporoză, anemie și întârziere în vindecarea plăgilor.*

- se elimină mai greu din organism fiind principalele responsabile de fenomenele toxice (hipervitaminoze)
- simtomele de deficit vitaminic apar mai târziu (luni)
- după absorbție sunt transportate la ficat (A, D, K) sau țesutul adipos (E).

Vitaminele A și D au acțiune hormon-like, prezentând receptori celulari specifici. Caracteristica importantă a clasei este aceea că sunt reținute un timp mai mare în organism formând depozite în special la nivelul ficatului.

Vitamina A

Sub denumirea de vitamina A se grupează mai multi compuși activi localizați în țesuturi diferite: forma alcool – retinol (vit. A1), forma aldehidă – retinal și acid retinoic (Fig. 5.20). Există precursori ai vitaminei A ce poartă numele de carotenoizi. Din această categorie cel mai important este *beta-carotenul.*

Sursa alimentară:

- ficat, gălbenuș de ou, lapte, unt, brânză
- plante: morcovi, ardei roșu, spanac

Necesarul zilnic:

2500 U.I/zi (0,75mg) la adult
4000 UI/zi (1,2mg) la femeile care alăptează
1000 UI/zi (0,3mg)

Vitamina A se absoarbe în organism sub forma a 2 compuși: retinolpalmitat și beta-caroten.
Absorbția are loc la nivelul intestinului prin transport activ, facilitat de o proteină CRBP (cellular retinol binding protein), împreună cu lipidele și încorporată în chilomicroni care sunt eliberați în circulația limfatică ajungând *la ficat unde se depozitează. Din depozitul hepatic este menținută concentrația plasmatică în situații de carență timp de câteva luni.*

Prin sânge retinolul circulă legat de o proteină (alfa 1 globulina) – RBP (retinol binding protein) și este captat de receptorii specifici de pe membrana celulelor țintă. Intracelular retinolul este captat de o altă proteină (CRBP citosolică) ce eliberează retinolul care este transformat în compuși activi în funcție de organele țintă: Astfel, în *retină:* formează rodopsina (pigmentul fotosensibil din celulele cu bastonase) și retinal și în *țesutul epitelial* formează acid retinoic.

Scanned with OKEN Scanner

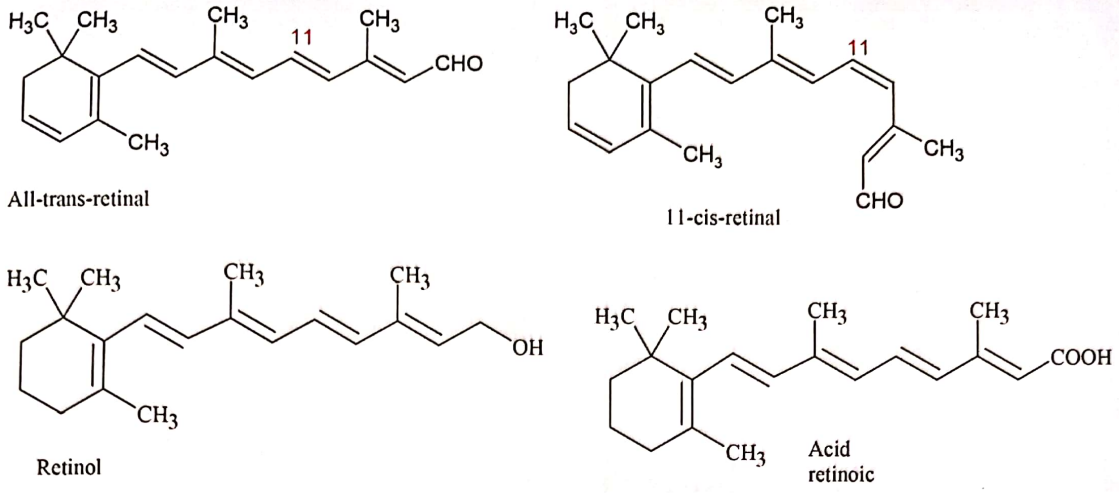


Figura 5.20 *Sub denumirea de vitamina A se grupează mai multi compuși activi: retinol (vit. A1), forma aldehidică, retinal și acidul retinoic.*

Rolul biologic

Vitamina A intervine în *funcția retinei* sub formă de retinal. *Rodopsina* se formează la întuneric din *cis-retinal și opsina* (lipoproteina). În prezența luminii (la 5 minute de iluminare) rodopsina suferă o reacție de fotodescompunere în urma căruia se obține opsina și pigmentul se decolorează. Refacerea pigmentului are loc în timp de 7 minute de întuneric și în proporție de 50%. Această fotoreacție este însoțită de generarea unui potențial de receptor la nivelul segmentului extern.

Menținerea unui nivel necesar de retinal depinde de aportul corespunzator de vitamina A sub formă de retinol care apoi este oxidat la aldehida sa. Rodopsina activată de stimulul luminos, comandă prin intermediul unei proteine numită transducina, stimularea GMPc fosfodiesterazei ce duce la scăderea GMPc intracelular urmată de scăderea activității canalelor transmembranare de sodiu și creșterea potențialului transmembranar. Acest potențial transmembranar este transmis celulelor retiniene receptoare ale segmentului intern și se dezvoltă un potențial de acțiune. Acesta stimulează celulele bipolare din segmentul intermediar al analizorului vizual ce modulează senzația luminoasă (Fig. 5.21). Celulele cu bastonase, datorită acestui mecanism biochimic, fotochimic și electric, asigură vederea la întuneric (Fig. 5.22). Vitamina A *asigură astfel vederea la întuneric precum și vederea diurnă și colorată* (pigmentul din celulele cu conuri). În transducția semnalului vizual sunt implicate un număr de 10 gene.

Un alt rol important al vitaminei A este în *creșterea și diferențierea celulelor epiteliale*, ea menține integritatea epiteliilor și împiedică keratinizarea. Acest efect este realizat de către acidul retinoic ce se formează prin oxidarea retinolului. Acidul retinoic formează un complex cu o proteină specifică CRABP (cellular retinoic acid binding protein) ce este captat de receptori nucleari specifici care modulează procesul de transcripție celulară.

Vitamina A intervine și *în reproducere* probabil sub forma retinolului.

Mecanismul prin care vitamina A prezintă *proprietăți anticanceroase* nu este suficient elucidat, dar se presupune ca intervine în transformarea celulelor maligne prin stimularea diferențierii în celule normale. Această proprietate este parțial explicată de intervenția retinoizilor în procesele de reglare a sintezei proteinelor și glicoproteinelor. Acest mecanism fiind limitat.

Vitamina A *favorizează de asemenea procesele imune legate de apărarea antiinfecțioasă*.

Patobiochimie

Carența alimentară este frecventă în țările sărace prin alimentație insuficientă sau se datorează tulburărilor de absorbție: boala celiacă, fibroza chistică, obstrucția biliară, ciroza hepatică (prin afectarea depozitelor).

Simptome principale:

- adaptare deficitară la întuneric (nictalopie)

Scanned with OKEN Scanner

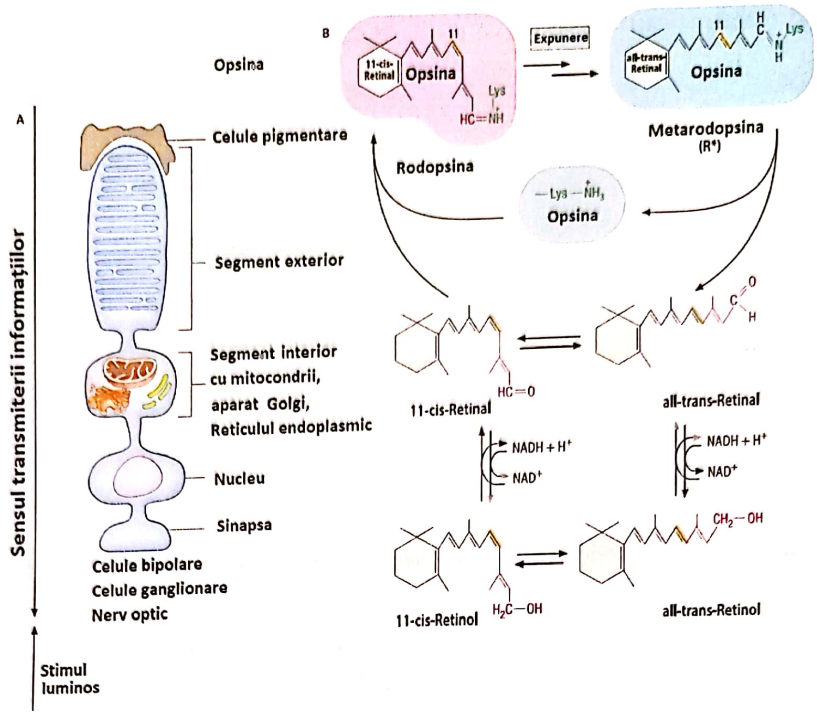


Figura 5.21 *(A) Structura bastonașelor. (B) Sub influența luminii, retinalul este eliberat din complexul cu opsina și formează rodopsina activă sau metarodopsina.*

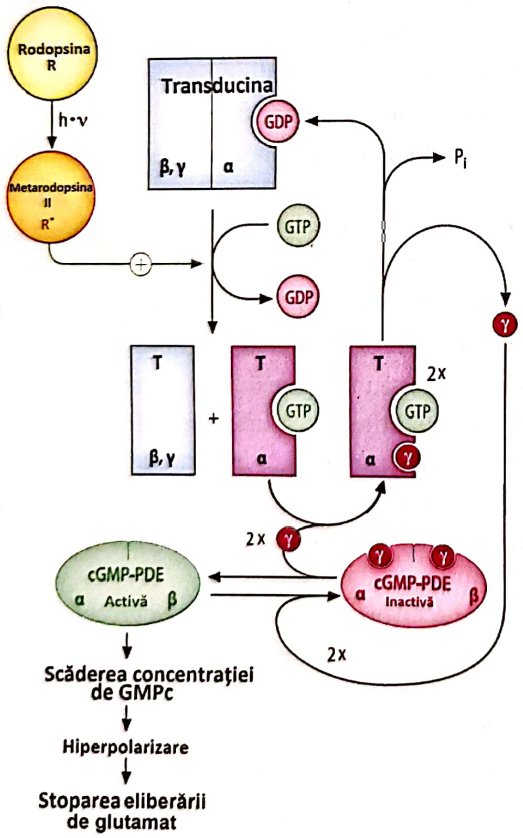


Figura 5.22 *Metarodopsina inițiază depolarizarea celulei neuronale la nivel sinaptic prin intermediul cGMP și stopează producția de glutamat care este semnalul care se transmite neuronilor aferenți (celule bipolare). La întuneric, dimpotrivă, calciul intră în celulă și o depolarizează și concentrația de glutamat crește.*

- ulcerații corneene, xeroftalmie (uscarea conjunctivei și corneei), keratomalacie (formă severă, keratinizare a corneei Fig. 5.23), xeroza (uscarea anormală a pielii și mucoaselor) și hiperkeratoza foliculară (Fig. 5.24)

În diabetul zaharat și hipertiroidism conversia carotenoizilor este scăzută, stările de malnutriție protein-calorică scad cantitatea de vitamina prin scăderea proteinei transportoare. Supradozarea vitaminei A determină apariția stărilor de *hipervitaminoză* ce apar după administrare îndelungată de doze mari, în special la copii. Simptomele supradozării sunt:

-hipertensiune intracraniana cu cefalee, exoftalmie, prurit (mâncărime), descuamarea pielii, căderea părului, conjunctivita, hepatosplenomegalie etc.

Retinoizii de sinteza prezintă un risc teratogen mare, putând fi cauza malformațiilor congenitale, din cauza efectului morfogen în timpul dezvoltării fetale.

Vitamina D

Din punct de vedere structural, vitamina D face parte din categoria derivaților steroidici și desemnează un grup de două substanțe activ biologic:

Scanned with OKEN Scanner

Figura 5.23 *Pacient cu xeroftalmia și keratomalacia cauzată de deficiența vitaminelor A și C, cu infectie secundară (keratitis) (Blanchard et al., 2014).*

Figura 5.24 *Hiperkeratoza foliculară ca urmare a carenței de vitamina A.*

Vitamina D2 (ergocalciferolul) și Vitamina D3 (colecalciferolul) (Fig.5.25).

Sursa alimentară: ficat, pește gras, gălbenuș de ou, ulei de peste.

Necesar zilnic: 10 µg/zi în faza de creștere; adulți: 2,5 µg

Ergosterolul se găsește în mucegaiuri și fungi și se tranformă prin iradiere în ergocalciferol. Calciferolul se absoarbe bine în partea de început a intestinului, împreună cu lipide și săruri biliare. Este eliberat în circulația limfatică sub formă de chilomicroni și ajunge la ficat unde este hidroxilat în poziția 25, formând 25-hidroxicolecalciferol.

Derivații 25- hidroxilați ai calciferolului și ergocalciferolului sunt forme circulante (legate de o alfa globulină specifică) și de transport ale vitaminei. Depozitarea se face în țesutul gras și în ficat.
În rinichi, 25 hidroxiderivații sunt hidroxilați în poziția 1 rezultând 1,25 dihidroxicolecalciferolul (calcitriolul), forma activă ce intervine în menținerea homeostaziei calciului (Fig. 5.26).

În mare parte, vitamina D necesară metabolismului se formează sub acțiunea razelor solare, la nivelul pielii, din 7-dehidrocolesterol, un precursor endogen cu formare de colecalciferol. Vitamina D este esențială în homeostazia calciului și fosfaților prin inhibarea eliminării renale și stimularea reabsorbției intestinale, stimularea mobilizării din oase și creșterii absorbției intestinale a calciului și fosfaților (Fig. 5.26). Acționează în interrelație cu parathormonul. Calcitriolul acționează asupra unor receptori nucleari, se fixează de ADN modulând transcripția genică.

PATOBIOCHIMIE

Hipovitaminoza D apare ca urmare a expunerii insuficiente la soare sau aportului insuficient de vitamină (copii, femei care alăptează). Hipovitaminoza se manifestă prin *rahitism la copii* **(Fig. 5.27)** și *osteomalacie la adulți* (Fig. 5.28).
Tabloul clinic al rahitismului constă în durere la nivelul membrelor inferioare în special în timpul mersului, deformarea oaselor lungi, deformarea osului frontal, rar tetanie și încrosearea sincondrozelor epifizare și costale.

Tabloul biochimic constă în scăderea ușoară a calcemiei, scăderea marcată a fosfatemiei, creșterea eliminării urinare a fosfatului, creșterea activității fosfatazei alcaline.

Hipervitaminoza D:
Supradozarea determină mobilizarea calciului din oase cu apariția osteoporozei, creșterea calcemiei și eliminarea urinară de calciu și fosfat. Poate să apară nefrocalcinoză prin depunerea calciului la nivelul rinichiului. Tabloul clinic: oboseală, cefalee, greață, vomă, diaree, poliurie, polidipsie.

Scanned with OKEN Scanner

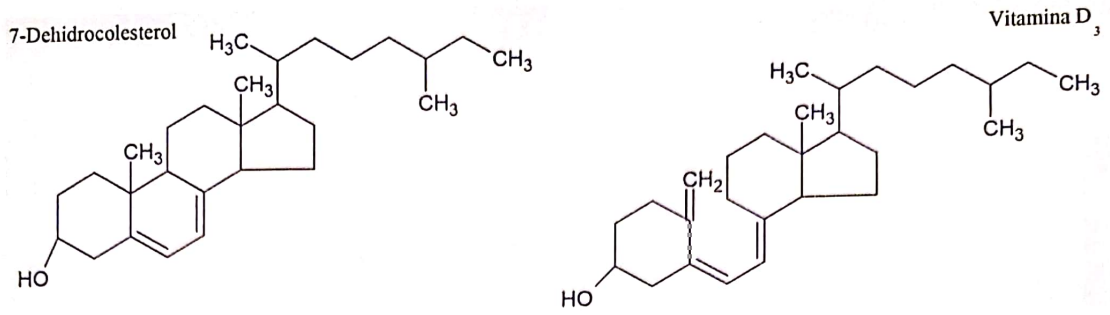


Figura 5.25 *Structura vitaminelor D2 (7-dehidrocolesterol; Ergosterol) și D3 (Colecalciferol).*

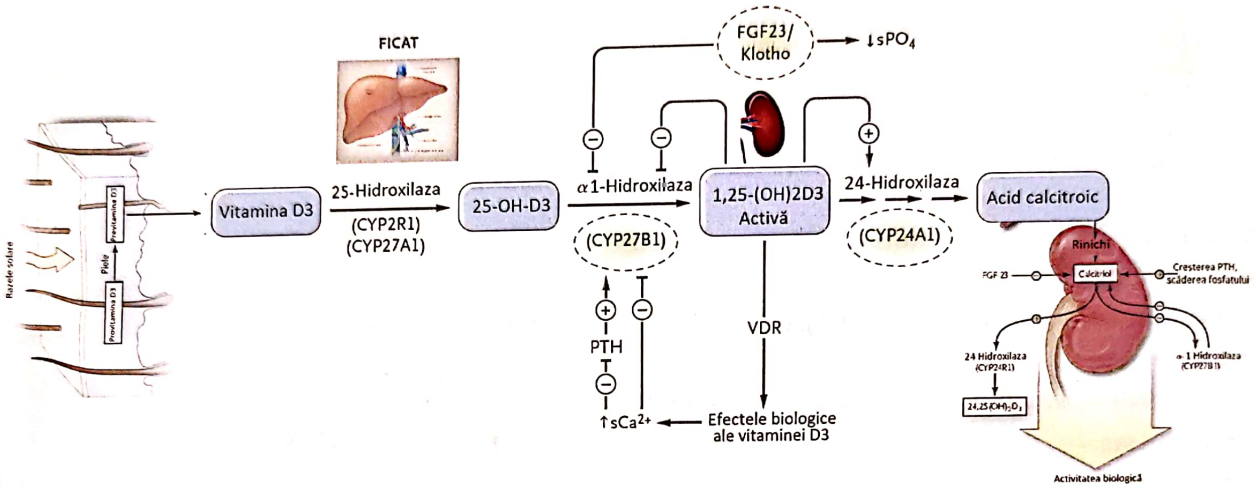


Figura 5.26 *Formarea vitaminei D3 sub acțiunea razelor solare și metabolismul ei în organism. Pentru detalii, vezi text (Adaptat după Schlingman et al., NEJM 2011)*

Vitamina E

Sub denumirea de vitamina E sunt denumiți compuși din clasa *tocoferolilor*, cel mai important compus fiind tocoferolul (Fig. 5.29).

Surse: uleiuri de soia, unt, oua și ficat

Necesarul zilnic: 10 -30 mg

Figura5.27 *Carența de vitamina D se manifestă prin rahitism la copii unde se poate observa deformarea oaselor lungi. (Adaptat după NEJM, Clinical Images, 2013).*

Osteomalacia

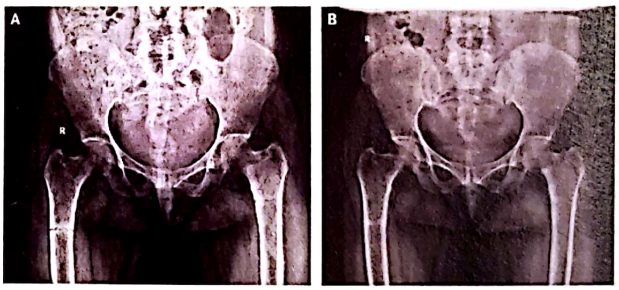


Figura 5.28 *Carența de vitamina D se manifestă prin osteomalacie la adulți. Imaginea este de la o pacientă cu fractură de femur cauzată de deficiența vitaminei D. (Adaptat după NEJM, Clinical Images, 2014).*

Ca și în cazul celorlalte vitamine liposolubile, absorbția are loc în intestin și vitamina este înglobată în chilomicroni care pe calea portală ajung la ficat. În ficat, chilomicronii sunt convertiți în "high-density lipoproteins" (HDL),"low density lipoproteins" (LDL) și very low-density lipoprotein(VLDL) care trec apoi în lichidul limfatic și apoi în sânge. Vitamina E este captată de celule indirect: lipazele digeră lipoproteinele menționate sau lipoproteinele sunt mai

Scanned with OKEN Scanner

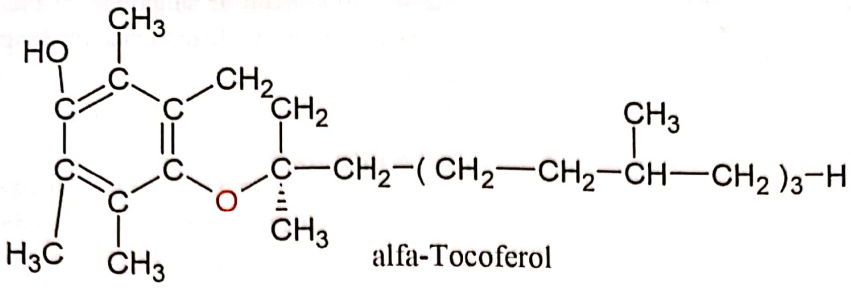


Figura 5.29 *Vitamina E face parte din clasa tocoferolilor, cel mai important compus fiind tocoferolul.*

întâi captate de receptori specifici prezenți pe suprafața celulei, internalizate și apoi procesate de lipaze cu eliberarea vitaminei E. Dintre țesuturi, glanda adrenală și țesutul adipos au cel mai ridicat conținut de vitamina E. În celulă, vitamina E este localizată în principal în mitocondrii. Necesarul zilnic este acoperit de obicei de rația alimentară.Vitamina E poate fi stocată în organism pe perioade foarte lungi (ani). Eliminarea vitaminei E are loc după ce este convertită la tocopherilhidroquinona, care se combină cu acidul glucuronic care este miscibil cu bila. Bila este apoi eliminată prin fecale.

Funcția cea mai importantă a vitaminei E este cea de antioxidant natural neutralizând radicalii liberi (Figura 5.30). În celulă, vitamina E este importantă pentru prevenția peroxidării acizilor nesaturați din membrana celulară. Rolul antioxidant al Vitaminei E este strâns legat de Vitamina C cu care se completează reciproc. Alfa-tocoferolul se regenerează cu ajutorul vitaminei C (Fig 5.31) .

Aportul de vitamina E din hrană este, de regula, suficient. În general, nu se cunosc cazuri patologice cauzate de deficiența acestei vitamine.

O dieta saracă în vitamina E poate duce, totuși, la o condiție patologică legată de fragilitatea eritrocitelor. Deficienta vitaminei E poate cauza oboseală, slăbirea sistemului imun, anemie și nivel scăzut de hormoni tiroidieni. Anumite boli pot cauza o deficiență de vitamina E prin afectarea asimilării vitaminei cum ar fi bolile ficatului, fibroza cistică, boala celiacă.

Vitamina K

Structural, Vitamina K desemnează un grup de vitamine, K1 (fitomenadiona) prezentă în legume; K2 (menaquinone) produsă în intestin de către bacterii și K3 care este sintetică (menadiona). După administrare, vitamina K3 este transformată în vitamina K2 prin alchilare (Fig.5.32).

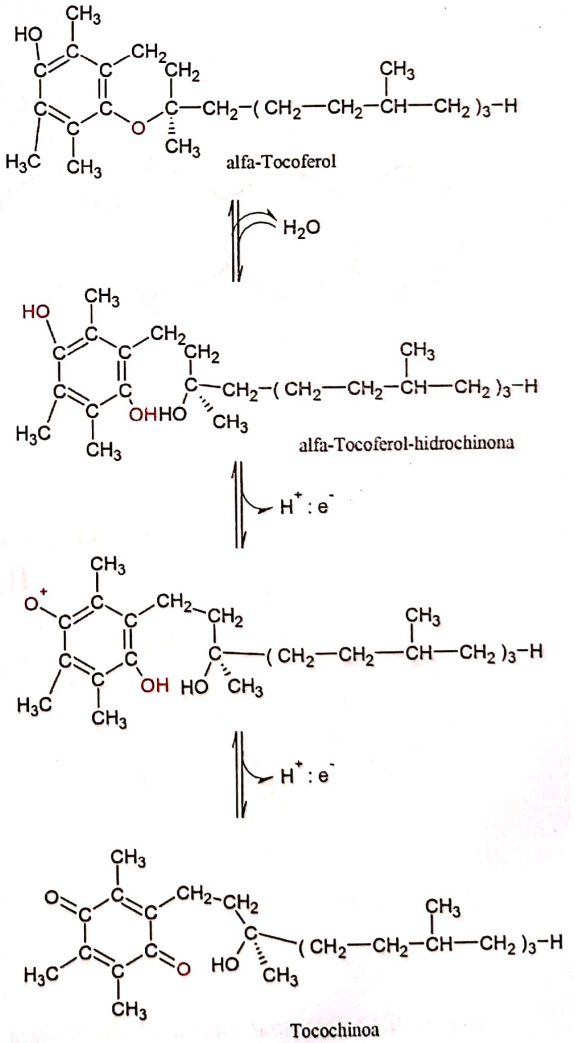


Figura 5.30 *Vitamina E este un antioxidant natural neutralizând radicalii liberi, RCOO.*

Scanned with OKEN Scanner

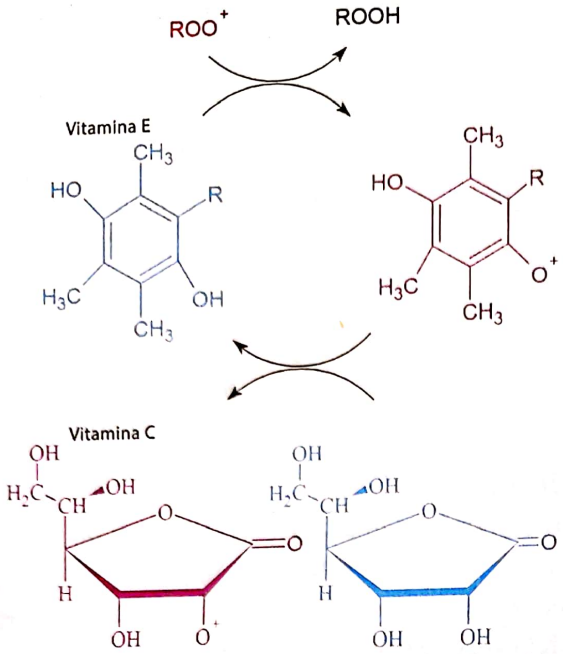


Figura 5.31 *Alfa-tocoferolul se regenerează cu ajutorul vitaminei C prin oxido-reducere.*

Surse: fitomenadiona se gaseste in plante, vitamina K2 fiind sintetizata de unele bacterii saprofite ale florei intestinale.
Necesarul zilnic este de: 35 -70 µg/zi.

Absorbția vitaminelor K se realizează la nivelul intestinului subțire împreună cu lipidele și celelalte vitamine liposolubile. Ajung pe cale limfatică la ficat unde formează depozite. La acest nivel intervin în sinteza postribozomală a unor proteine cu rol în coagulare: protrombina (factorul II), proconvertina (factorul VII), factorul Stuart-Power (factorul X).

PATOBIOCHIMIE

Absorbția vitaminei K în intestin are loc numai în prezența sărurilor biliare care formează chilomicroni (Fig. 5.33). Din acest motiv, tulburări de digestie și adsorbție pot duce la deficiențe ale acestei vitamine. Vitamina K3 este solubilă în apă și deci adsorbită indiferent de prezența lipidelor intestinale iar vitamina

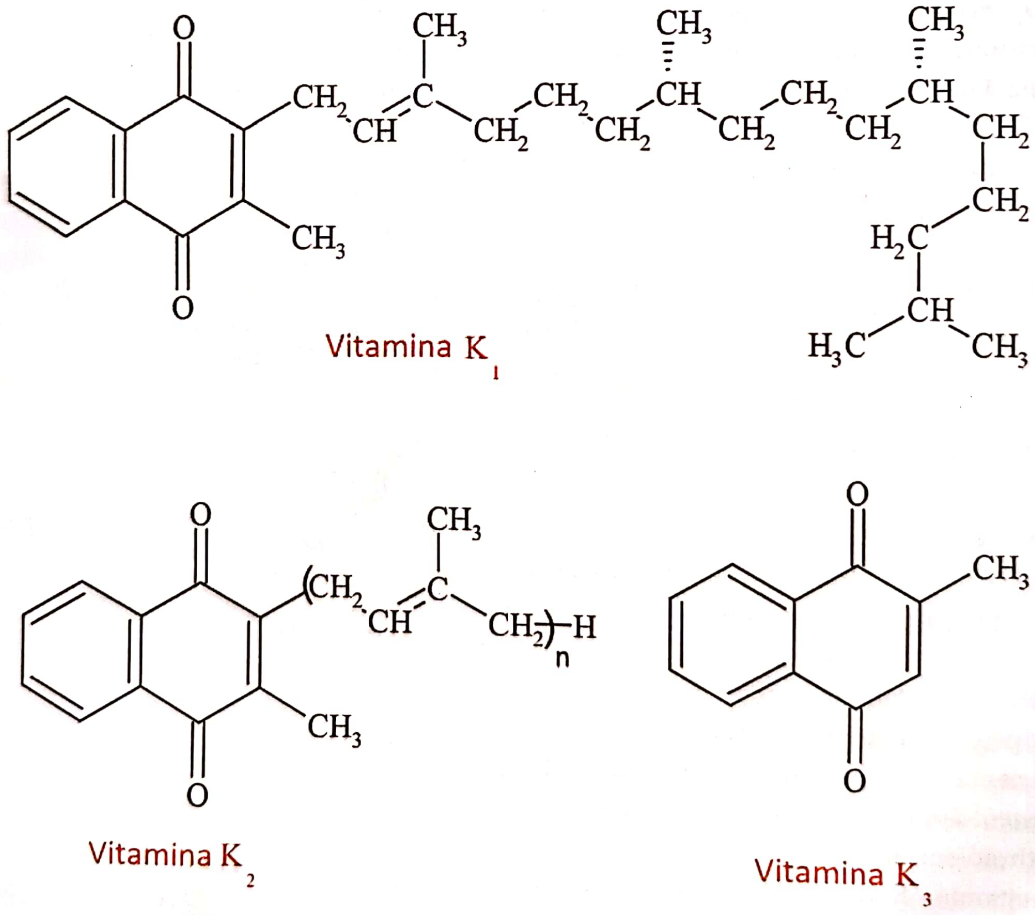


Figura 5.32 *Structural, vitamina K desemnează un grup de vitamine, K1 (fitomenadiona); K2 produsă în intestin de către bacterii și K3 care este sintetică.*

Scanned with OKEN Scanner

K2 este produsă de bacteriile intestinale. Din acest motiv, tratamente prelungite cu antibiotice pot duce la o deficiență de vitamina K la adulți.

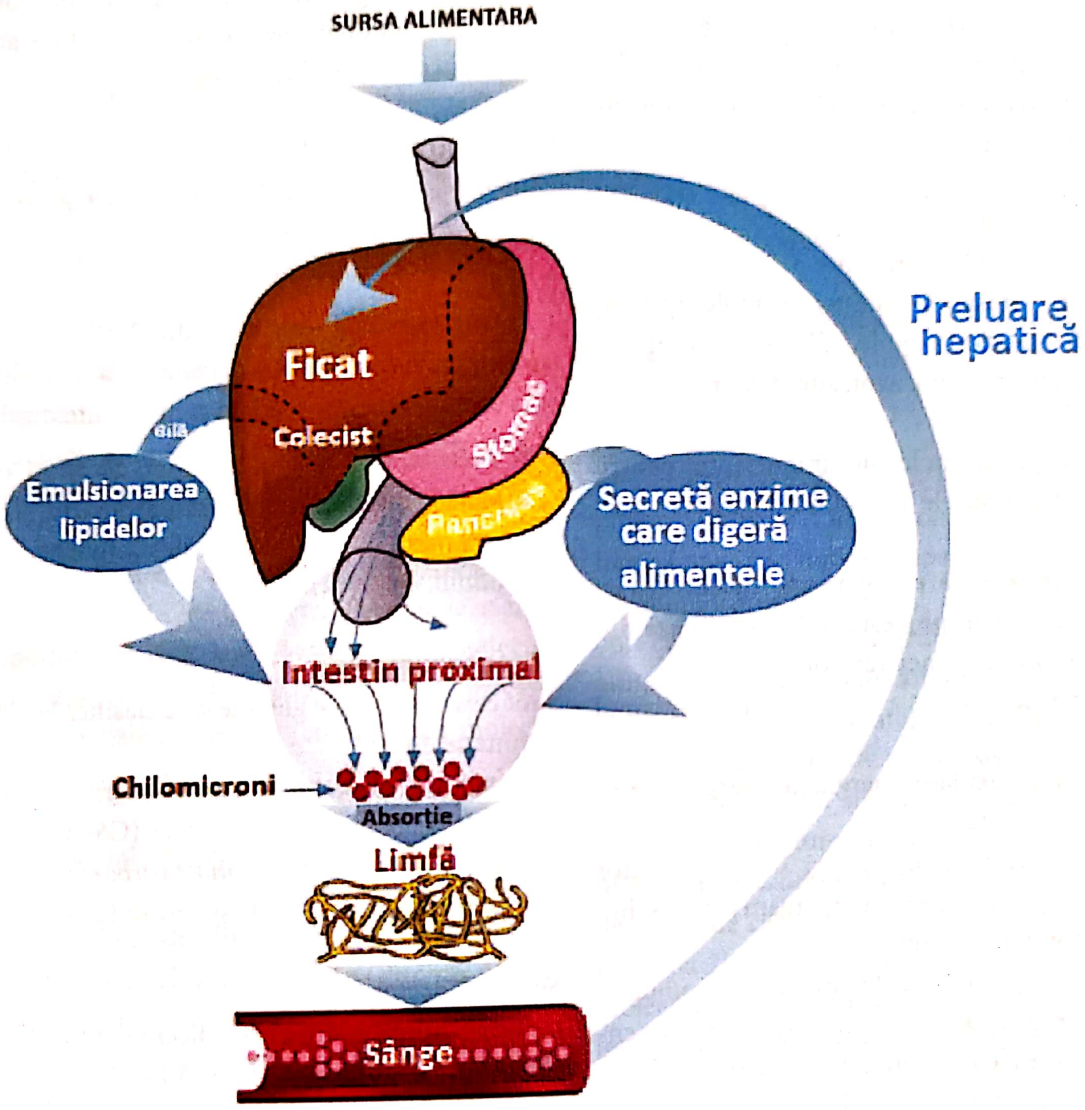


Figura 5.33 *Absorbția vitaminei K în intestin are loc în prezența sărurilor biliare care intră în structura chilomicronilor.*

Scanned with OKEN Scanner

6. GLUCIDE

Glucidele sunt compuși organici foarte răspândiți în natură, alcătuiți din carbon, hidrogen și oxigen. Datorită alcătuirii lor, glucidele au fost denumite inițial hidrați de carbon (carbohidrați) altă denumire folosită frecvent este aceea de zaharuri.

Formula generală a glucidelor este:

$(CH_2O)n$, unde $n \geq 3$.

Glucidele care corespund acestei formule generale sunt numite glucide simple. Glucidele complexe conțin și alți atomi precum: azot, sulf, fosfor.

Glucidele sunt macromolecule importante pentru plante, animale și om, ele îndeplinind *roluri* importante:

1. plantele depozitează energia sub formă de carbohidrați în cursul procesului de fotosinteză din CO_2 și H_2O sub acțiunea razelor solare.
2. sunt forme de stocare a energiei în organismul uman.
3. eliberează prin oxidare, energia necesară proceselor metabolice vitale.
4. glucidele reprezintă precursori în sinteza altor compuși importanți pentru organism (oferă scheletul de atomi de carbon).
5. se leagă de alți compuși formând glicoconjugați (glicolipide, glicoproteine), care sunt componente importante ale membranelor celulare.
6. sunt implicate în procesele de recunoaștere celulară, intervenind astfel în procesele de creștere și dezvoltare, precum și în alte procese importante pentru organism cum ar fi apărarea imună, coagularea etc.).

Nomenclatura glucidelor este extrem de complexă, acestea se denumesc uzual cu numărul de atomi de carbon, urmat de sufixul "**-ză**".

Clasificarea glucidelor

Glucidele pot fi grupate în trei mari categorii:

1) *Monozaharide* – alcătuite dintr-o singură unitate glucidică (monomeri).
2) *Oligozaharide* – alcătuite din 2-10 unități monozaharidice. Oligozaharidele alcătuite din două unități de monozaharid sunt numite dizaharide.
3) *Polizaharide* – sunt polimeri alcătuiți din sute până la mii de unități de monozaharid și pot avea structură liniară sau ramificată (glicogenul, amidonul, celuloza).

Monozaharidele

Sunt cele mai simple glucide și se clasifică la rândul lor în funcție de:

1. *numărul de atomi de carbon* în: trioze (C3), tetroze (C4), pentoze (C5), hexoze (C6), heptoze (C7).
2. *natura grupării funcționale carbonil*: aldoze (grupare aldehidă -CHO) și cetoze (grupare ceto –C = O).

Seria aldozelor

Cea mai simplă aldoză este gliceraldehida. Glucoza și galactoza sunt cele mai importante aldohexoze pentru organism. Dintre aldopentoze, riboza este cea mai importantă în organismul uman (Fig. 6.1).

Seria cetozelor

Cea mai simplă cetoză este dihidroxiacetona. Dintre cetohexoze, cea mai importantă este fructoza (Fig. 6.2).

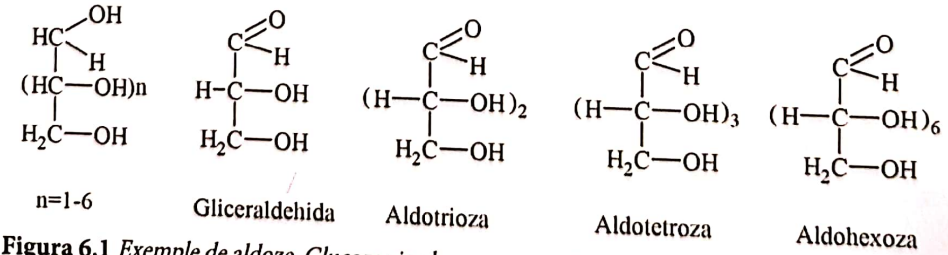


Figura 6.1 *Exemple de aldoze. Glucoza și galactoza sunt cele mai importante aldohexoze iar riboza este cea mai importantă aldopentoză.*

Scanned with OKEN Scanner

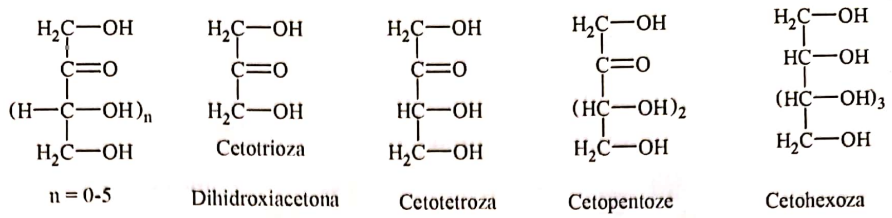


Figura 6.2 *Dintre cetohexoze cea mai importantă este fructoza.*

Stereoizomeria monozaharidelor

Pentru a putea explica și înțelege diversitatea mare a glucidelor este necesar să cunoaștem câteva noțiuni de *izomerie*.

Numim *izomeri* două substanțe care au aceeași formulă chimică (aceeași compoziție) dar care au structură chimică diferită, deci ca urmare și proprietăți fizice și chimice diferite.

Izomeria poate fi de mai multe tipuri: izomerie de structură, izomerie spațială etc. Formulele clasice arată modul în care se leagă atomii într-o moleculă dar nu oferă nici o informație în ceea ce privește dispoziția spațială a acestora (configurația moleculei).

Izomeria spatială (stereoizomeria). Enantiomeri. Epimeri

Multe monozaharide diferă între ele numai prin aranjamentul spațial al moleculei (**Glu**coza vs **Ga**lactoza) (Fig. 6.3).
Izomeria spațială poate fi, izomerie geometrică (cis-trans) și izomerie optică (D și L).

Izomeria optică se datorează asimetriei moleculare a compușilor organici.

Se consideră asimetrice acele molecule care nu se pot suprapune peste imaginea lor în oglindă (Fig. 6.4).

Monozaharidele prezintă, în funcție de poziția grupării hidroxil (OH) a atomului de carbon asimetric cel mai depărtat de gruparea funcțională carbonil, două forme izomerice, D și L. Atomul de carbon care conține patru grupări chimice diferite se numește *atom de carbon asimetric* (centru asimetric sau centru de chiralitate). Glucidele conțin unul sau mai mulți atomi de carbon asimetrici. Gliceraldehida este cel mai simplu monozaharid, ce are în compoziție un atom de carbon asimetric. Stiind că **numărul de izomeri posibil** este: 2^n(n = numărul de atomi de carbon asimetrici), gliceraldehida poate forma $2^1 = 2$ stereoizomeri care se mai numesc și molecule *chirale*– molecula și imaginea ei în oglindă nu pot fi suprapuse (Fig. 6.5).

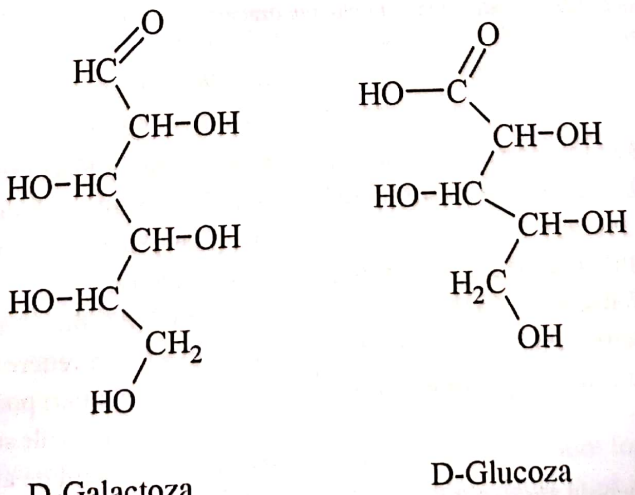


Figura 6.3 *Multe monozaharide diferă între ele numai prin aranjamentul spațial al moleculei.*

Scanned with OKEN Scanner

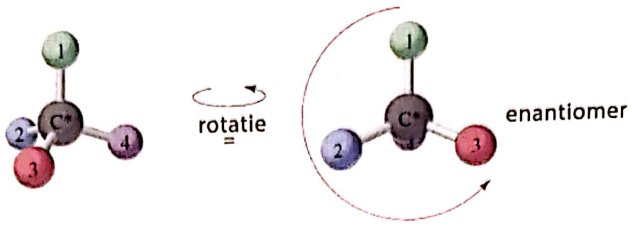


Figura 6.4 *Molecule care nu se pot suprapune peste imaginea lor în oglindă se consideră asimetrice.*

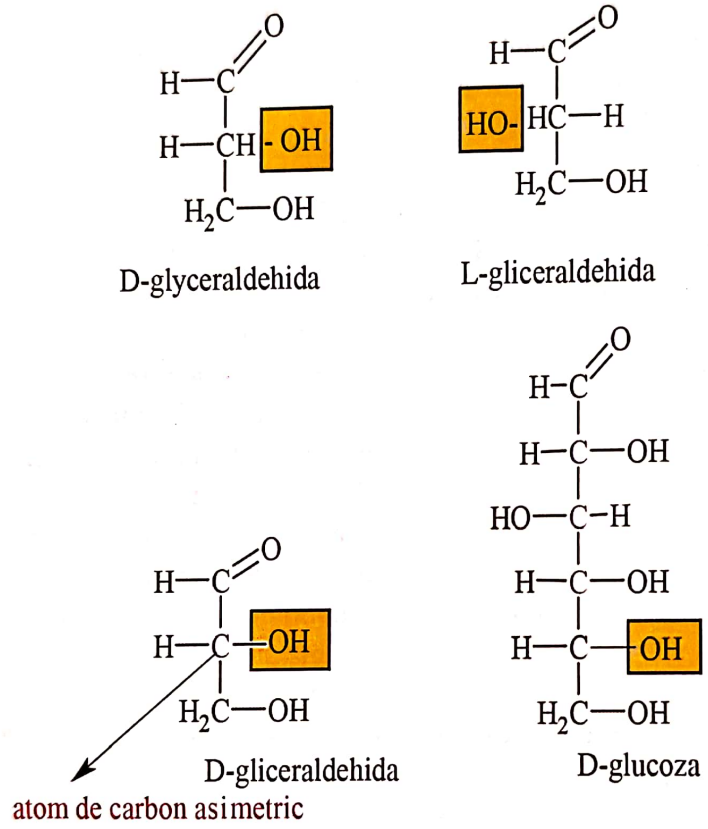


Figura 6.5 *Gliceraldehida este cel mai simplu monozaharid, ce are în compoziție un atom de carbon asimetric.*

Grupările chimice atașate atomului de carbon asimetric pot fi aranjate sub două forme diferite nesuperpozabile (nu se pot suprapune peste imaginea lor în oglindă), asemănător mâinii stângi și a celei drepte atunci când se reflectă într-o oglindă, generându-se astfel o pereche de stereoizomeri (D și L) numiți *enantiomeri* (din limba greacă *enantios* – opus și *meros* - parte).

Exemplu: D și L gliceraldehida sunt enantiomeri.

Reprezentarea Fischer a stereoizomerilor

Modul convențional de reprezentare bidimensională prin proiecție a unei molecule organice tridimensionale este numit proiecție Fischer. Aceasta a fost stabilită de chimistul german Fischer la sfârșitul secolului XIX, în vederea identificării L și D glucozei dintre cei 16 izomeri posibili ai acesteia. În proiecția Fischer toate legăturile sunt reprezentate vertical sau orizontal. Scheletul de atomi de carbon fiind reprezentat vertical, primul atom de carbon de sus este prin convenție atomul de carbon 1 (Fig. 6.6).

Scanned with OKEN Scanner

Proiectii Fischer ale D-gliceraldehidei

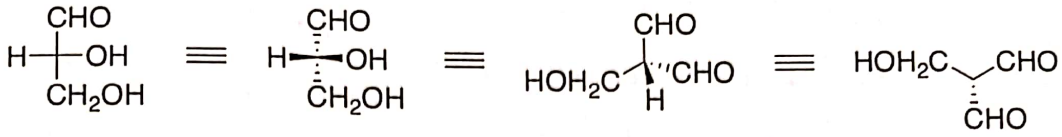


Figura 6.6 *Proiecția Fischer pentru gliceraldehidă.*

Atunci când există mai multe centre de chiralitate (mai mulți atomi de carbon asimetrici) stabilim dacă această moleculă aparține seriei D (+) sau L (-) în funcție de poziția grupării hidroxil (OH) de la atomul de carbon asimetric cel mai depărtat de gruparea carbonil. Această proprietate structurală a fost pusă în evidență prin modul în care se comportă față de *lumina polarizată* (Fig. 6.7).

Acești compuși fiind prezenți sub forma unuia dintre izomeri (D sau L), în unele cazuri celălalt izomer fiind chiar toxic pentru organism (thalidomida).
Amestecul celor două tipuri de izomeri optic activi este numit **amestec racemic**.
Glucoza este monozaharidul cel mai important pentru organismul uman se găsește în sânge sub forma stereoizomerului D.

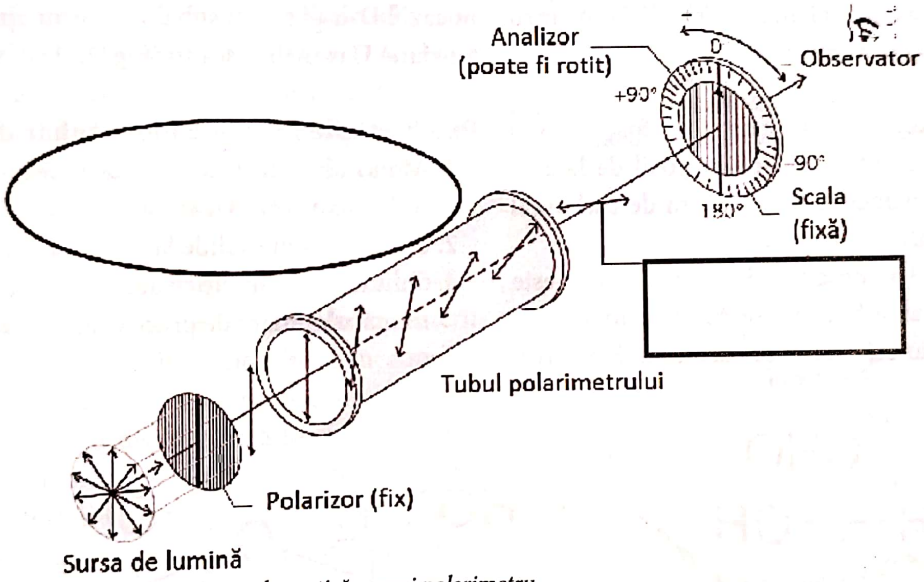


Figura 6.7 *Reprezentare schematică a unui polarimetru.*

Moleculele enantiomere au aceleași proprietăți fizice dar se comportă diferit față de lumina polarizată (lumina ce vibrează într-un singur plan după trecerea printr-un filtru de polarizare).

Moleculele care rotesc planul luminii polarizate spre dreapta se numesc **dextrogire** și se notează cu semnul (+). Moleculele care rotesc planul luminii polarizate spre stânga se numesc **levogire** și se notează cu (-).

Organismele vii conțin numeroși compuși optic activi, care prezintă atomi de carbon asimetrici (aminoacizi, monozaharide, hidroxiacizi etc.).

Soluția de D-glucoză utilizată în medicină este cunoscută sub numele de dextroză. Stereoizomerii care diferă între ei prin poziția grupărilor unui singur atom de carbon asimetric se numesc *epimeri* (D-glucoza și D-galactoza) (Fig. 6.8).

Reprezentarea ciclică Haworth

Monozaharidele sunt reprezentate sub formă ciclică (formule de perspectivă) propuse de Haworth în 1927.

Cel mai des utilizate sunt formele furanozice și piranozice, aceste cicluri fiind imaginate perpendicular pe planul hartiei.

Scanned with OKEN Scanner

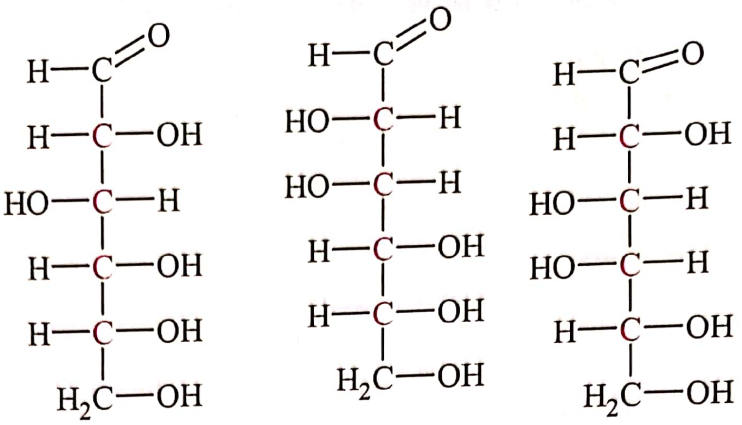


Figura 6.8 *Exemple de stereoizomeri care diferă prin poziția OH de la atomii de carbon asimetrici (în roșu).*

Pentru zaharurile din **seria D** gruparea **CH_2OH** este reprezentată deasupra planului ciclului iar pentru L-zaharuri sub acesta (Fig. 6.9).

Fiecare dintre izomeri poate exista în 2 forme, α sau β în funcție de poziția grupării hidroxil de la atomul de carbon asimetric (fostul atom de carbon al grupării carbonil).
Acești izomeri se numesc anomeri. Anomerul α este cel la care gruparea hidroxil se găsește situată sub planul ciclului, iar cel β deasupra acestuia (Fig. 6.10).

Conformația monozaharidelor poate fi reprezentată în cazul D-α-glucozei sub două forme spațiale fără tensiune Haworth și scaun (Fig. 6.11).

Proprietățile fizice ale monozaharidelor

1. Monozaharidele au gust dulce, cea mai dulce fiind fructoza (zaharul din fructe)
2. Sunt substanțe solide la temperatura camerei
3. Sunt foarte solubile în apă, proprietate datorată numărului mare de grupări hidroxil

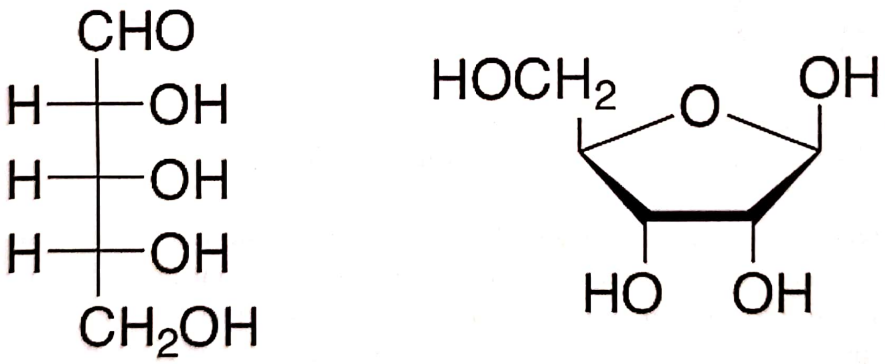


Figura 6.9 *Molecula de ß-D-riboză reprezentată prin metoda Fischer și prin metoda Haworth.*

Amestecul celor două forme izomere L și D numește amestec racemic. În soluție, gruparea hidroxil poate trece spontan (neenzimatic) din poziția α în poziția β, fenomen numit mutarotatie.
În organism enzimele scindează specific legăturile α sau β dintre unitățile de monozaharid, acționând specific doar asupra uneia dintre ele.

Proprietăți chimice ale monozaharidelor

Având grupare carbonilică și grupări hidroxilice, glucidele prezintă o serie de proprietăți caracteristice fiecărei grupări.

Scanned with OKEN Scanner

1. **Oxidarea monozaharidelor** poate avea loc la gruparea carbonil cu formarea acizilor corespunzători denumiți în general **acizi aldonici**. Un exemplu este oxidarea glucozei la acid gluconic (Fig. 7.12). Acidul ascorbic (vitamina C) este cel mai important gluco-acid și se obține pornind de la D-glucoză printr-o serie de transformări oxidative și hidrolitice. Oxidarea **la gruparea alcool terminală** (în care gruparea carbonil rămâne nemodificată), conduce la formarea **acizilor uronici.**De exemplu: **D-Glucoză → Acid Glucuronic** (Fig. 6.13). Acidul glucuronic (glucuronat) este important pentru detoxifierea organismului, prin conjugare cu acidul glucuronic eliminându-se din organism unele substanțe toxice și medicamente.
2. **Reducerea monozaharidele** poate avea loc la gruparea carbonil formând **polialcoolii** corespunzători. D-glucoza formează D-Sorbitol (Fig. 6.13) iar D-fructoza formează atât D-Sorbitol cât și D-Manitol. Prin reducerea ribozei se formează dezoxiriboza (Fig. 6.14) ce intră în structura acidului dezoxiribonucleic (ADN).

3. **Esterificarea** monozaharidelor cu acidul fosforic duce la formarea de esteri fosforici. Esterii fosforici ai monozaharidelor intră în compoziția acizilor nucleici și a compușilor macroergici (ATP) fiind de asemenea intermediari importanți ai metabolismului glucidic. Exemple de esteri fosforici importanți pentru organismul uman sunt glucozo-6-fosfatul și esterii fosforici ai ribozei. *Glucozo-6-fosfatul* se obține prin fosforilarea glucozei la atomul de carbon 6, aceasta este o condiție esențială a rămânerii glucozei în celulă și a angajării acesteia într-o cale metabolică, în funcție de necesitățile organismului la momentul respectiv (Fig. 6.15). *Esteri fosforici ai ribozei* intră in compozitia*compușilor macroergici* ai organismului (ATP – adenozin trifosfatul; GTP – guanozin trifosfatul), acizi nucleici (Fig . 6.16).

4. **Aminozaharurile** se obțin prin înlocuirea unei grupări hidroxil din structura monozaharidelor cu grupare amino. Aminozaharurile precum fructozamina, galactozamina sunt componente structurale ale mucopolizaharidelor.

Aminozaharurile sunt frecvent acetilate la gruparea amino formând zaharuri N-acetilate. De exemplu, N-acetil-glucozamina (NAG) – intră în structura peretelui protector al bacteriilor gram pozitive (Fig. 6.17).

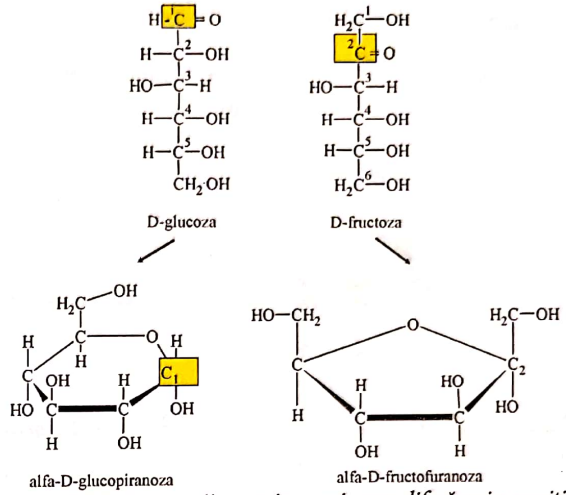


Figura 6.10 *Anomerii sunt izomeri care diferă prin poziția grupării hidroxil de la atomul de carbon asimetric (C1 și C2).*

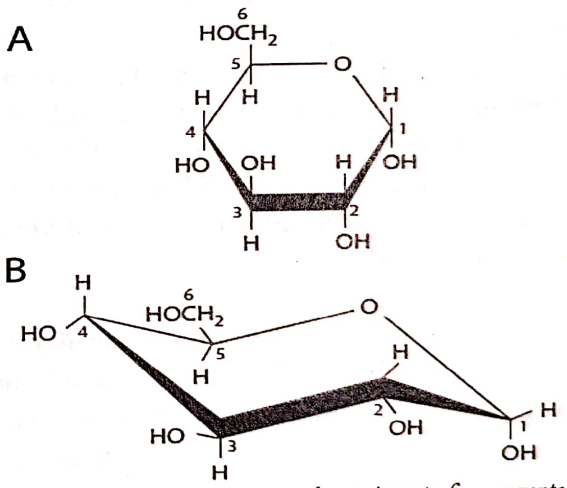


Figura 6.11 *Conformația D-α-glucozei poate fi reprezentată sub două forme spațiale, (A) Haworth și (B) scaun*

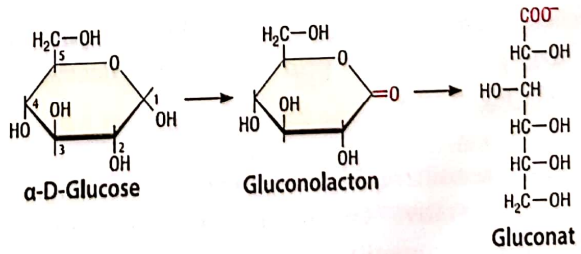


Figura 7.12 *Oxidarea glucozei la acid gluconic.*

Scanned with OKEN Scanner

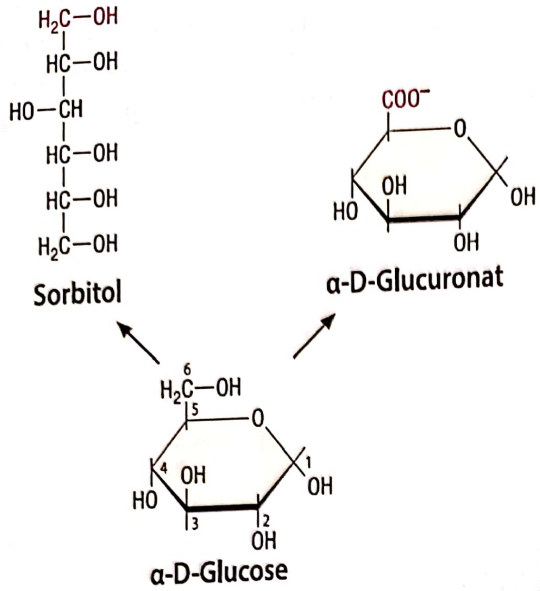


Figura 6.13 *Oxidarea grupării alcool terminale a D-glucozei duce la formarea acidului glucuronic.*

Dizaharide importante pentru organismul uman

Maltoza–este un dizaharid care se formează prin hidroliza amidonului în cursul digestiei. Este alcătuită din două unităti de α-D-glucoză legate prin legătură O-glicozidică α(1→4)(Fig. 6.18A). Este scindată hidrolitic la glucoză sub acțiunea maltazei: **Maltoza = Glucoză + Glucoză**

Lactoza se găsește în lapte (7% în laptele uman și 5% în laptele de vacă). Este alcătuita dintr-o unitate de α-D-glucozăși β-D-galactoză legate între ele prin legătură β (1→4) glicozidică (Fig. 6.18B). Este hidrolizatăîn organism la unitățile componente sub acțiunea lactazei: **Lactoza = Glucoză + Galactoză**

Trehaloza este un dizaharid format din două unitati de α-D-glucoză legate prin legătură O-glicozidică α(1→1)(Fig. 6.19A).

În clinică se utilizează în tratamentul unor boli neurodegenerative ca Huntington, Parkinson si Alzheimer (tauopatii) unde faciliteaza eliminarea agregatelor patologice de proteine insolubile prin activarea caii de semnalizare mTOR.

Zaharoza (Sucroza) este un dizaharid alcătuit dintr-o unitate de glucoză și una de fructoză legate între ele prin legătura glicozidică (Fig. 6.19B). Se găsește în trestia de zahăr, sfecla de zahăr etc. Hidroliza acidă a zaharozei conduce la zahărul invertit, alcătuit din glucoză și fructoză, cu gust mai dulce decât zaharoza: **Zaharoza = Glucoză + Fructoză.**

Aplicații clinice

Lactuloza este un dizaharid sintetic alcătuit din galactoză și fructoză (Fig. 6.20) ce nu se absoarbe la nivelul tractului gastro-intestinal fiind utilizat ca agent terapeutic.

La nivelul colonului sub acțiunea florei bacteriene, lactuloza este transformată în acid acetic, acid formic și acid lactic. Formarea acestor acizi conduce la scăderea pH-ului și în consecință la scăderea producției și absorbției amoniacului la nivelul intestinului, cu beneficiu cert în tratamentul encefalopatiei hepatice. Lactuloza este utilizată și ca laxativ.

Sucroza intră în compoziția sucralfatului, agent terapeutic cu rol protector al mucoasei gastro-duodenale, folosit în tratamentul ulcerului. Sucralfatul conține sucroză sulfatată și conjugată cu hidroxid de aluminiu, ce eliberează aluminiu sub acțiunea HCl, încărcându-se puternic electronegativ și legându-se astfel de molecule electropozitive (peptide, proteine, glicoproteine, alte medicamente) și de mucusul gastric formând astfel o peliculă protectoare, ce diminuează inflamația și favorizează vindecarea leziunilor mucoasei.

Polizaharidele

Compușii alcătuți din 3-12 unități de monozaharid unite prin legături O-glicozidice se numesc ***oligozaharide***. Polimerii alcătuiți din 10 până la câteva mii de unități de monozaharide care prin hidroliză (chimică sau enzimatică) se descompun în monozaharidele componente, se numesc ***polizaharide***.

Homoglicani

Acestea mai sunt cunoscute și sub denumirea de ***glicani*** și au o structură liniară sau ramificată.
În funcție de compoziția lor polizaharidele se pot clasifica astfel:

Scanned with OKEN Scanner

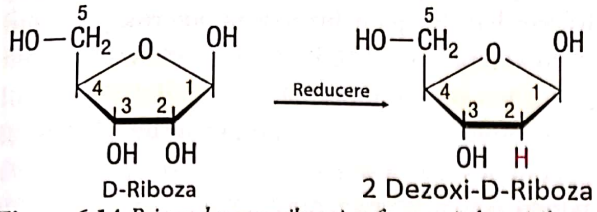


Figura 6.14 *Prin reducerea ribozei se formează dezoxiriboza.*

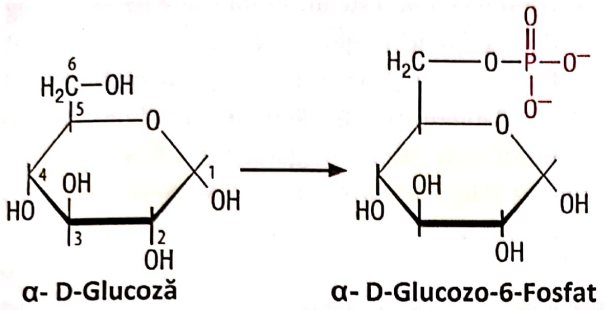


Figura 6.15 *Glucozo-6-fosfatul se obține prin fosforilarea glucozei la atomul de carbon 6.*

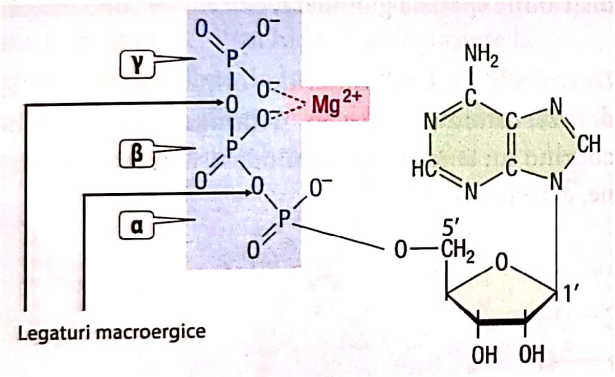


Figura 6.16 *Esteri fosforici ai ribozei intră în compoziția ATP – adenozin trifosfatul.*

- *homoglicani* (homopolizaharide) – alcătuite dintr-un singur tip de monozaharid. Cei mai importanți homoglicani sunt amidonul și glicogenul.

- *heteroglicani* (heteropolizaharide) –care conțin două sau mai multe tipuri de unități monozaharidice diferite ce sunt de obicei compuși derivați de la monozaharide. Cele mai frecvente heteropolizaharide sunt: mucopolizaharidele ce intră în alcătuirea proteoglicanilor (se cunosc sub denumirea de glicozaminoglicani) și poliozidele care intră în constituția peretelui bacterian.

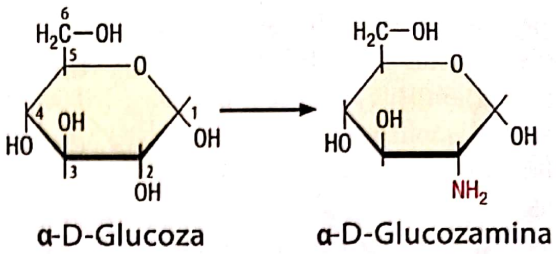


Figura 6.17 *Glucozamina este frecvent acetilată la gruparea amino formând N-acetil-glucozamina.*

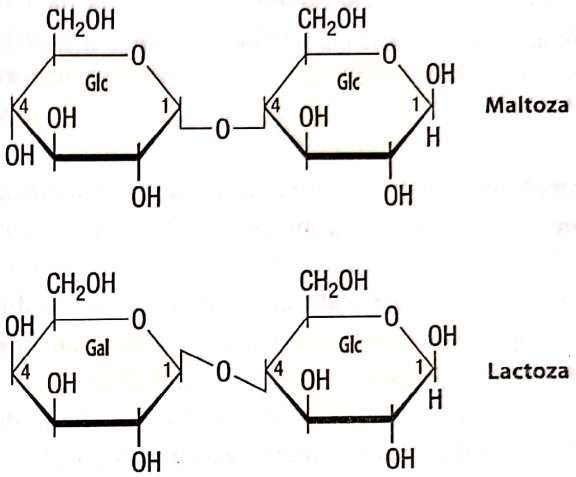


Figura 6.18 *Maltoza este un dizaharid format din două unități de α-D-glucoză legate prin legătură O-glicozidică α(1→4)(A). Lactoza este alcătuita dintr-o unitate de α-D-glucoză și β-D-galactoză legate între ele prin legătură β (1→4) glicozidică (B).*

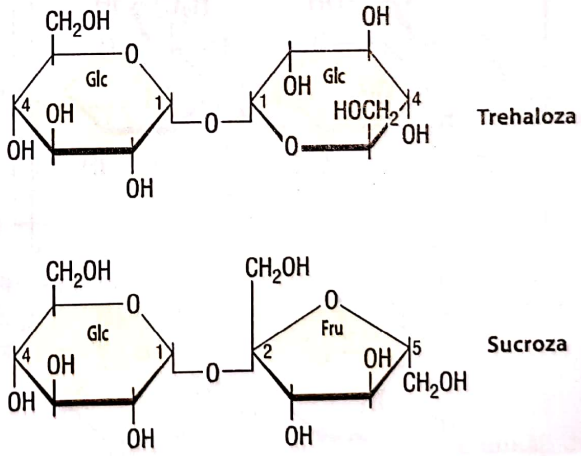


Figura 6.19 *Trehaloza este un dizaharid format din două unități de α-D-glucoză legate prin legătură O-glicozidică α(1→1)(A). Sucroza este un dizaharid alcătuit dintr-o unitate de glucoză și una de fructoză legate între ele prin legătura glicozidică (B).*

Amidonul este un polimer al glucozei cu rol de rezervă de glucide in regnul vegetal. Pentru organismul uman reprezintă principala sursă de glucide

Scanned with OKEN Scanner

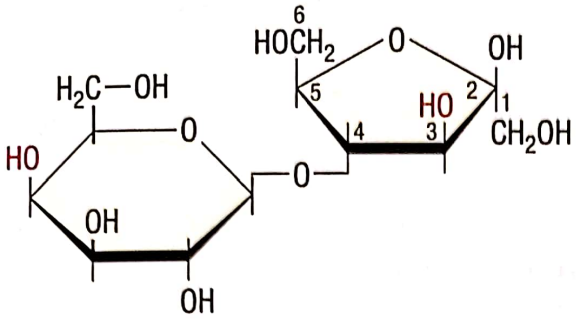


Figura 6.20 *Lactuloza este un dizaharid sintetic alcătuit din galactoză și fructoză legate între ele prin legătura glicozidică β (1→4) glicozidică.*

Amidonul are o structură ramificată neomogenă, prezentând două componente separabile:

- ***Amiloza*** – are o structură liniară alcătuită din legături α (1→4) glicozidice, identice cu cele care se găsesc și în maltoză (Fig. 6.21A).
  Conține de la 1000 până la 2000 de unități de glucoză cu dispoziție spațială helicoidală ce poate lega iodul, formând o culoare caracteristică albastră-purpurie.
  Prezintă aspectul unei mase albe, amorfe care în amestec cu apa se hidratează puternic generând o soluție coloidală. Iodul este frecvent utilizat ca test pentru prezența amidonului. Amidonul conține α-amiloză în proporție de 10-30% și este scindat enzimatic, în organismul uman, la glucoză, maltoză și dextrine.

- ***Amilopectina***–este alcătuită dintr-un lanț lung de monomeri de glucoză (până la 10^5 molecule) legați prin legătură α (1→4) glicozidică, ce prezintă la intervale de 24-30 de unități de glucoză, ramificații datorate legăturilor α (1→6) glicozidice (Fig. 6.21B). Reprezintă 80%-90% din molecula de amidon.

Amilopectina nu se dizolvă în apă, formând un gel ce se colorează în maroniu în prezența iodului.
Prezența ramificațiilor face ca amilopectina să aibă o distribuție spațială globulară, extrem de condensată.

Dextrinele sunt polizaharide formate în cursul hidrolizei amidonului sub acțiunea amilazelor și cuprind un amestec de: amilodextrine, eritrodextrine, acrodextrine.

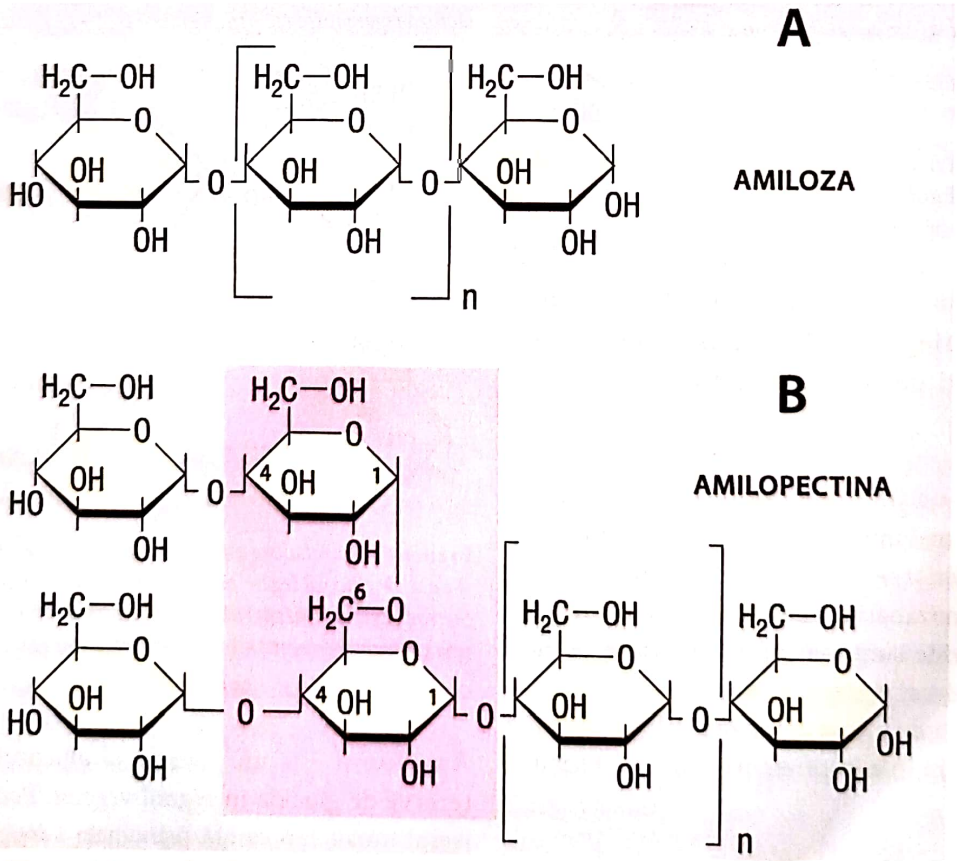


Figura 6.21 *Amidonul este un polimer al glucozei alcătuit din amiloză (A) și amilopectină (B).*

Scanned with OKEN Scanner

Aplicații clinice-Hidroxietilamidonul-(HAES-steril, Plasmasteril) este un amestec complex de amilopectină hidrolizată în concentrație 6%, ce prezintă proprietăți coloidale asemănătoare albuminei.
Administrat intravenos hidroxietilamidonul determină o creștere a volumului plasmatic în stări de șoc, intrând în categoria substituenților polimerici de plasmă.

Glicogenul
este forma de depozit majoră a glucozei în organismul animalelor, fiind depozitat în special în ficat și mușchi. Este asemănător atât ca funcție cât și ca structură cu amilopectina, fiind alcătuit din unități de glucoză legate prin legături α (1→4) glicozidice, prezentând ramificații prin legături α (1→6) la fiecare 8-12 unități de glucoză (Fig. 6.22).

Masa moleculară a glicogenului variază în funcție de starea de nutriție. Prin hidroliză dă naștere la glucoză și contribuie la menținerea unui nivel constant nivelul glicemiei în organism și furnizează energia necesară metabolismului celular.

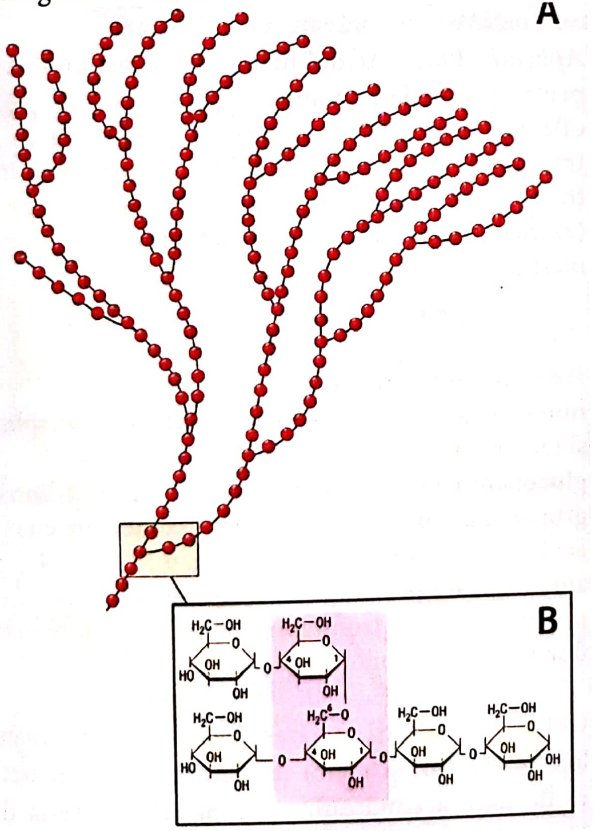


Figura 6.22 *Glicogenul are molecula este mult mai ramificată comparativ cu cea a amilopectinei, prezentând ramificații prin legături α (1→6) la fiecare 8-12 unități de glucoză.*

Celuloza
este un polizaharid alcătuit din lanțuri lungi, *fără ramificații,* formate din unități de glucoză (între 300-3000) legate prin legături β-glicozidice (1→4) (Fig. 6.23). Datorită prezenței legăturilor glicozidice de tip β, prezintă o structură de ansamblu diferită de cea a amilozei, formând lanțuri drepte alungite cu legăturile de hidrogen alăturate, formând astfel o strucură foarte rigidă.
Celuloza este cel mai răspândit compus organic de pe planetă ce intră în alcătuirea peretelui celular al plantelor (conferă rigiditate – lemnul fiind alcătuit în proporție de 50% celuloză). Majoritatea animalelor și omul nu prezintă enzime care să fie capabile să scindeze hidrolitic celuloză, din acest motiv această nu prezintă nici o valoare nutritiva pentru om, neputând fi utilizată. Deși celuloza nu prezintă valoare nutritivă, ea formează la nivelul intestinului o masă nedigerabilă, mecanică, având *rol în reglarea peristaltismului intestinal și în formarea bolului fecal.* Celuloza intră în alcătuirea fibrelor alimentare. Unele animale precum oile, caii și vacile pot procesa celuloza cu ajutorul bacteriilor din colon care sunt capabile să scindeze legăturile glicozidice dar necesită un timp mai îndelungat de digestie.

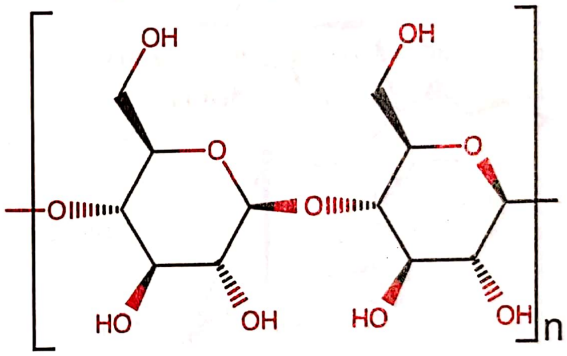


Figura 6.23 *Celuloza este un polizaharid alcătuit din lanțuri lungi, fără ramificații formate din unități de glucoză (între 300-3000) legate prin legături glicozidice β (1→4).*

Dextranul este un polizaharid alcătuit din unități de glucoză legate α (1→6)(Fig. 6.24) și este sintetizat sub acțiunea unor bacterii asupra zaharozei (*Leuconostoc mesenteroides* și *Streptococcus mutans*). Face parte din categoria substituenților de plasmă, având o vâscozitate și o presiune osmotică asemanatoare cu aceasta.

Aplicații clinice: Dextranul este utilizat în terapia șocului in cazuri de urgenta de pierderi plasmatice

Scanned with OKEN Scanner

în vederea refacerii volemiei.

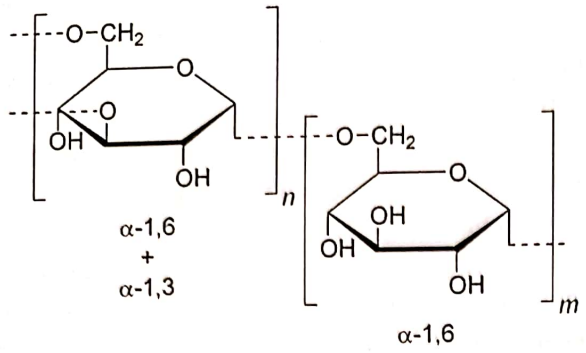


Figura 6.24 *Dextranul este un polizaharid alcătuit din unități de glucoză legate α (1→6).*

Inulina este un polizaharid ce conține D-fructoză (Fig. 6.25). Acesta este în totalitate filtrat la nivelul rinichiului și nu este reabsorbit sau secretat la nivelul tubilor renali. Datorită acestor proprietăți este utilizată ca test în *aprecierea funcției renale*. Cu ajutorul clearance-ului de inulină se poate aprecia rata

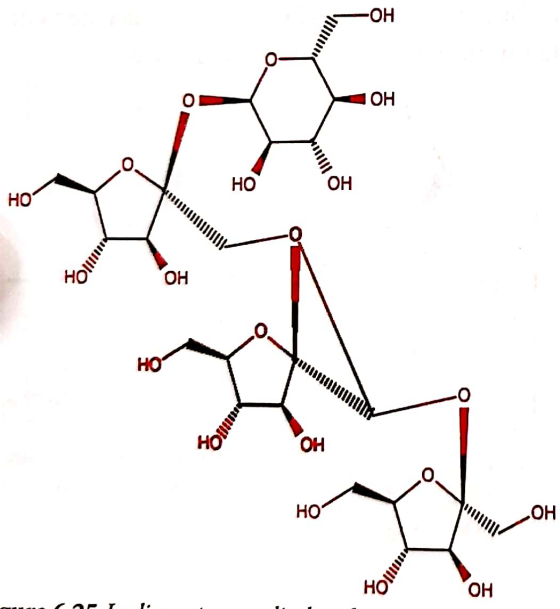


Figura 6.25 *Inulina este un polizaharid ce conține D-fructoză.*

de filtrare glomerulară (RFG).

Heteroglicani

Acidul N-acetil muramic (NAM) și N-acetil neuraminic (NANA) sunt derivați de la monozaharide. (Fig. 6.18). Sub forma acetilată intră în structura peretelui bacterian. Se mai numesc și acizi sialici.

Glicozaminoglicanii (GAG) sunt componente esențiale ale țesuturilor, cel mai importanți fiind reprezentați de: acidul hialuronic, heparina, condroitinsulfații, dermatansulfații, keratansulfații.

Acidul hialuronic: este alcătuit din unități repetitive formate din **N-acetil-glucozamina** (NAG) și **acid glucuronic** (Fig. 6.26). *Nu conține grupări sulfat*. Se găsește la nivelul pielii, cordonului ombilical, umoarea vitroasă, fluidele sinoviale. În organism îndeplinește numeroase roluri: protecție mecanică și rol în lubrefierea articulațiilor, intră în compoziția cimentului intercelular, a țesuturilor conective.

Acidul hialuronic este component al capsulei streptococului β hemolitic grup A și se pare că intervine în virulența acestuia. Acidul hialuronic este scindat în organism în unitățile componente sub acțiunea hialuronidazei. Hialuronidaza bacteriană permite invazia microorganismului patogen prin scindarea acidului hialuronic.
Hialuronidaza tisulară pare să fie implicată în diseminarea tumorală (metastazare).

Aplicații clinice: Acidul hialuronic a fost utilizat pentru prima dată în anul 1970 în chirurgia oftalmologică (cataracta, implant de cristalin, transplant de cornee). Este utilizat de asemenea în tratamentul osteoartritelor, al dermatitelor atopice (exemelor), are aplicații în cosmetică și chirurgia plastică.

Heparina este un produs de secreție al mmastocitelor la nivelul ficatului, plămânilor, splinei și tegumentelor. Un polimer alcătuit din **D-glucozamină** și **D-glucuronic**, în care câteva dintre grupările amino și hidroxil rămân combinate cu acidul sulfuric (grupări sulfat)(Fig. 6.27) are rol anticoagulant prin blocarea transformării protrombinei în trombină, prevenind astfel formarea fibrinei și a trombilor.

Condroitinsulfatii se găsesc în structura tendoanelor, cartilagiilor și a altor țesuturi conective. Structura de bază a condroitinsulfatilor este alcătuită din **N-acetil-galactozamină** și **acid glucuronic** (Fig. 6.28).

Scanned with OKEN Scanner

Acid hialuronic
[β-Glucuronat(1→3)-β-GlcNAc(1→4)-]$_n$

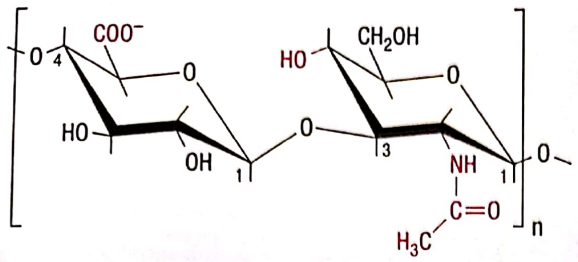


Figura 6.26 *Acidul hialuronic este alcătuit din unități repetitive formate din N-acetil-glucozamina (NAG) și acid glucuronic.*

Dermatansulfatul predomină la nivelul tegumentelor, dar este întâlnit și în tendoane, cartilagii, valve cardiace. Are o structură asemănătoare cu cea a condrointinsulfaților, diferența constă în faptul că acidul glucuronic este înlocuit cu acidul iduronic (Fig. 6.29).

Glicoconjugati

Toate celulele mamiferelor sunt acoperite într-o matrice densă numită „glycocalyx", compusă din glicoproteine, glicolipide, glicophospholipide și proteoglicani (Fig. 6.30) care îndeplinește funcții diverse cum ar fi recunoaștere celulară, adeziune intercelulară, protecție sau barieră de permeabilitate. Numele de „glycocalix" provine din grecește, „*Glykys*", dulce și „*kalux*", înveliș.

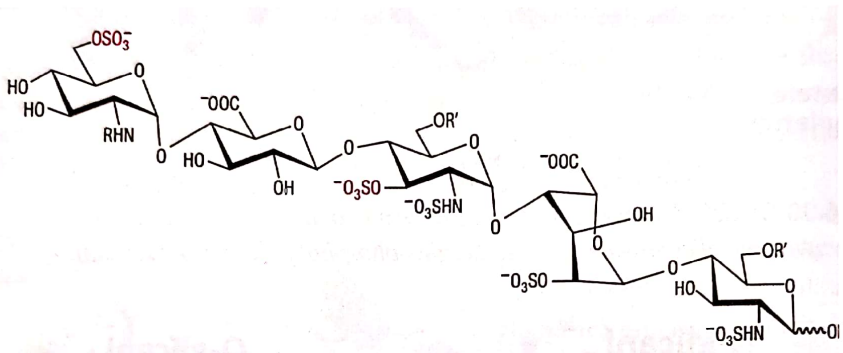
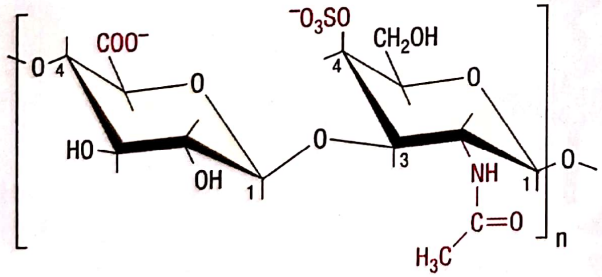


Figura 6.27 *Heparina este un polimer alcătuit din D-glucozamină și D-glucuronic, în care câteva dintre grupările amino și hidroxil sunt legate de grupări sulfat*

Condroitin 4-sulfat
[β-Glucuronat(1→3)-β-GalNAc-4-sulfat(1→4)-]$_n$



Condroitin 6-sulfat
[β-Glucuronat(1→3)-β-GalNAc-6-sulfat(1→4)-]$_n$

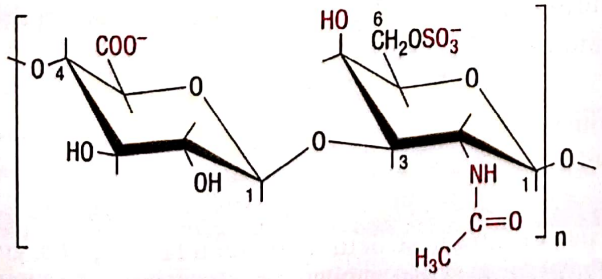


Figura 6.28 *Condroitinsulfatii sunt polimeri alcătuiți din N-acetil-galactozamină și acid glucuronic.*

Dermatansulfat
[α-Iduronat(1→3)-β-GalNAc-4-sulfat(1→4)-]$_n$

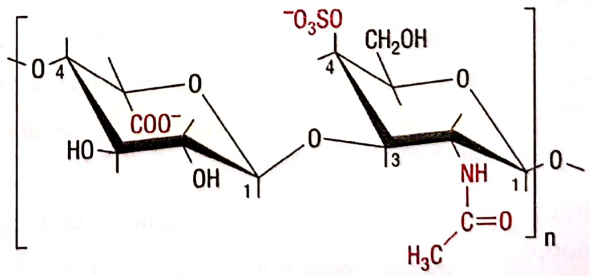


Figura 6.29 *Dermatansulfatul are o structură asemănătoare cu cea a condrointinsulfaților, diferența constă în faptul că acidul glucuronic este înlocuit cu acidul iduronic.*

Glicoproteine

Sunt molecule complexe ce se formează prin legarea covalentă a unui lanț oligozaharidic (glican) la un lanț polipeptidic (proteina) prin legături N-glicozidice (la Asn) sau O-glicozidice (la Ser/Thr), proces

Scanned with OKEN Scanner

denumit glicozilare (Fig. 6.31). Proteinele rezultate sunt numite proteine glicozilate.

Glicoproteinele ancorate de membrana celulară servesc drept receptori pentru hormoni, precum și ca

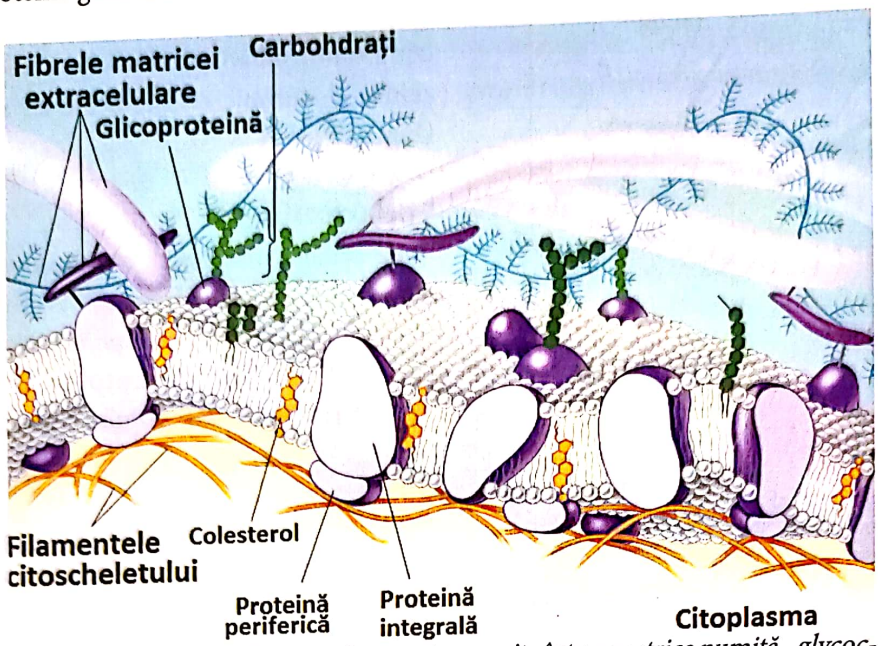


Figura 6.30 *Celulele din organism sunt acoperite într-o matrice numită „glycocalyx", compusă din glicoproteine, glicolipide, glicophospholipide și proteoglicani.*

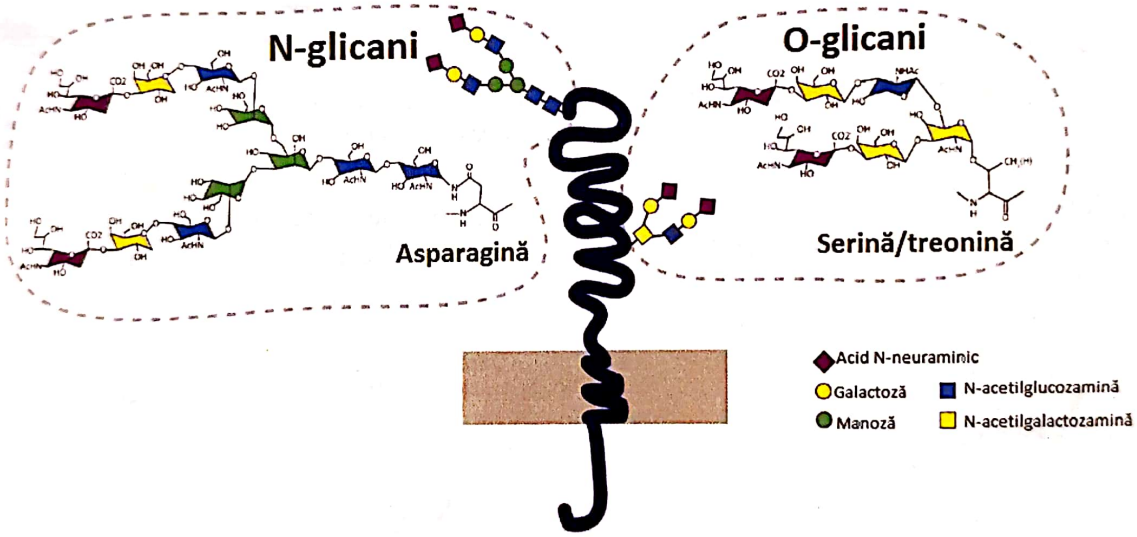


Figura 6.31 *Glicoproteinele sunt complexe formate din lanțuri oligozaharidice (glican) și proteine legate prin legături N-glicozidice sau O-glicozidice.*

Sinteza părții proteice are loc la nivelul reticulului endoplasmic, iar *partea glucidică este atașatăîn lumenul reticulului endoplasmic la nivelul complexului Golgi*. Glicoproteinele îndeplinesc în organism roluri biologice vitale, ele intră în alcătuirea membranelor celulare, sunt anticorpi (intervin în apărarea imună), au rol de hormoni sau enzime (enzimele din cascada coagulării).

Mucinele salivare sunt de asemenea glicoproteine (Fig. 6.32).

situsuri de recunoaștere celulară, bacteriile și virusurile putându-se lega la membrana celulară prin intermediul acestor compuși.

Glicoproteinele din structura membranei eritrocitului sunt responsabile de adeziunea și aglutinarea acestor celule (Fig. 6.33). Sunt componente importante ce intră în structura virusului HIV (gp41 și gp 120)(Fig. 6.34) și mediază intrarea virusului HIV (Fig. 6.35) sau Ebola în celulă (Fig. 7.36).

Scanned with OKEN Scanner

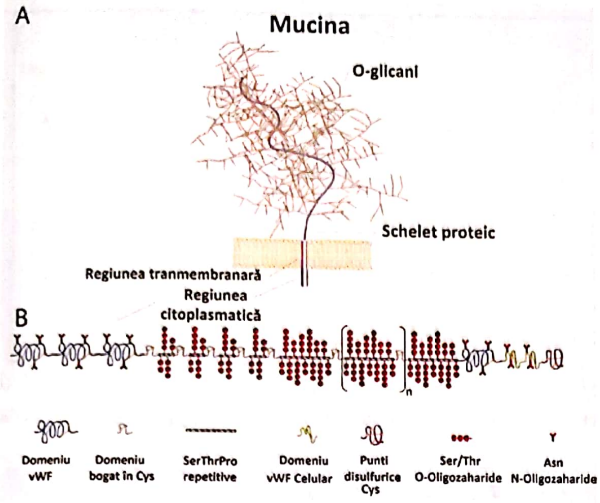


Figura 6.32 *Mucinele salivare sunt de asemenea majoritar glicoproteine ancorate în membrana celulară printr-o regiune transmembranara (A). Din compozitie fac parte domenii von Willebrand (vWF) precum si oligozaharide (B).*

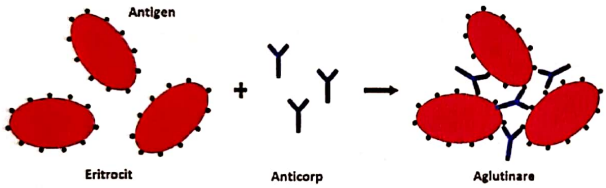


Figura 6.33 *Glicoproteinele din structura membranei eritrocitului sunt responsabile de adeziunea și aglutinarea acestor celule.*

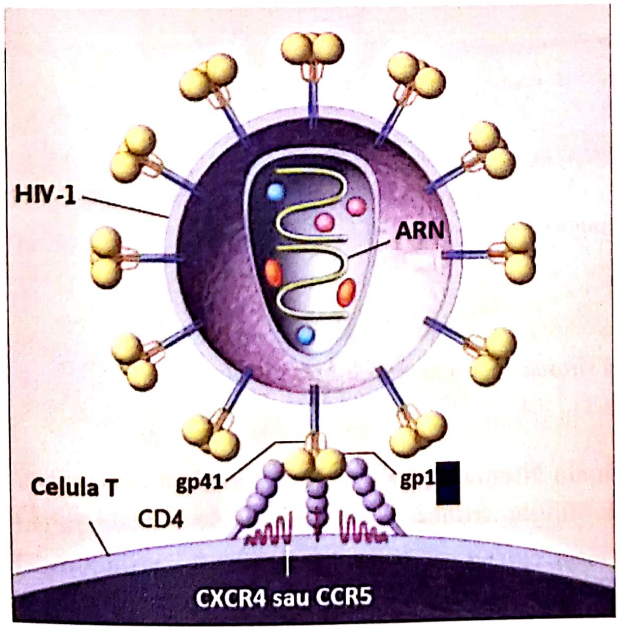


Figura 6.34 *Glicoproteinele sunt componente importante ce intră în structura virusului HIV (gp41 și gp 120) si mediaza intrarea virusului HIV prin atasare la receptorul CD4 prezent pe suprafata limfocitelor (celule T).*

Proteoglicani

Sunt componentele majore ale membranei celulare alături de colagen și elastină, mai lungi comparativ cu glicoproteinele. Ei se găsesc în compoziția lichidului sinovial, a umorii vitroase a ochiului, a peretelui arterial, cartilagii și matricea extracelulară. Alături de fibronectină participă la migrarea și adeziunea celulară, împreună cu laminina intrăîn structura membranei bazale.Proteoglicanii, prezintă ca structură o parte proteică situată de obicei central și numeroase catene de glicozaminoglicani către exterior.

Agrecanul este un proteoglican ce se găsește la nivelul articulațiilor. Este alcătuit 90% dintr-o parte glucidică (keratansulfat, condroitin sulfat) legată la un dipeptid alcătuit din serină și glicină (Fig. 6.37).

Sindecanul este un proteoglican ce se găsește situat la suprafața celulelor și poate fixa diferiți liganzi având rol în semnalizarea celulară. Unitatea glucid-ică este reprezentată de heparansulfat.

Glicolipide

Glicolipidele sunt compuși alcătuiți din lipide (sfingozina) (Fig. 6.38) și resturi oligozaharidice. Din această categorie fac parte cerebrozidele și gangliozidele. Sfingolipidele sunt amestecuri complexe alcătuite din: ceramide, sfingomieline (Fig. 6.39), cerebrozide, sulfatide, gangliozide.

Acestea sunt componente importante ale sistemului nervos central iar defecte în biosinteza sau procesarea acestora pot duce la boli nervoase ca: Boala Gaucher, boala Tay-Sachs, boala Sandhoff, boala Krabbe, boala Niemann Pick.

Boala Gaucher este o tulburare ereditară a metabolismului glucocerebrozidelor (datorată deficitului beta-glucozidază ce determină acumularea de glucocerebrozide în special la nivelul leucocitelor, dar și la nivelul sistemului nervos central, la nivelul ficatului, splinei și plămânilor.

Boala Tay-Sachs se datorează deficitului de hexoza-minidază A, fiind mai frecventă la evreii Askenazi și se caracterizează prin acumularea de gangliozide la nivelul creirului, ficatului și splinei.

Scanned with OKEN Scanner

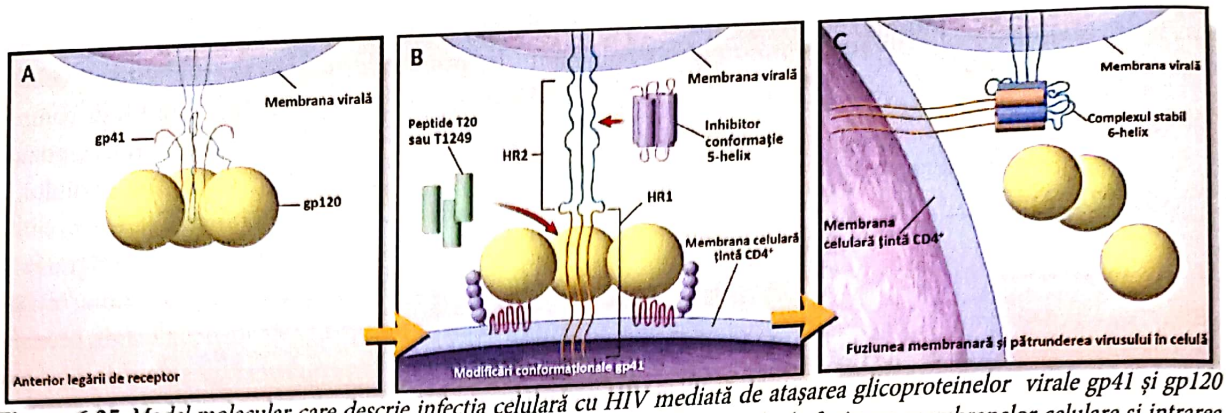


Figura 6.35 *Model molecular care descrie infecţia celulară cu HIV mediată de ataşarea glicoproteinelor virale gp41 şi gp120 (A) la receptorul CD4 prezent pe suprafaţa limfocitelor CD-pozitive (B) urmat de de fuziunea membranelor celulare şi intrarea virusului HIV în celula imună (C).*

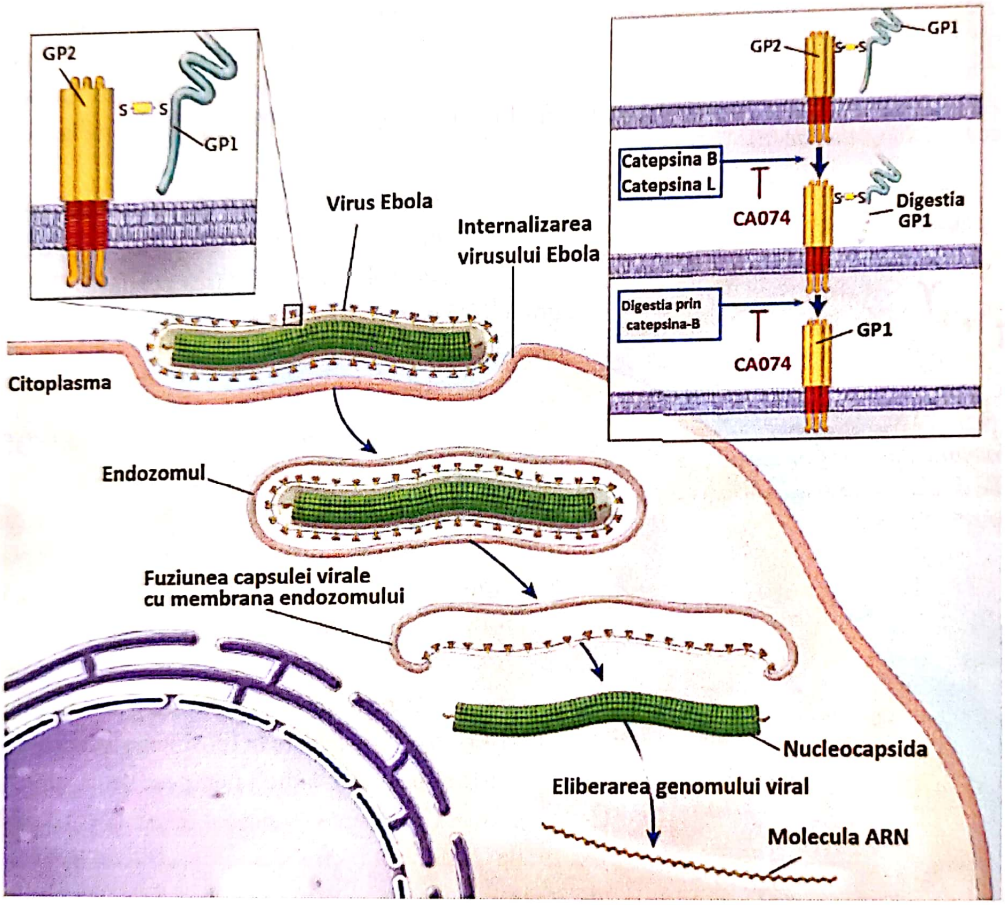


Figura 6.36 *Model molecular care descrie fuziunea şi intrarea virusului Ebola în celulele organismului mediată de glicoproteinele virale GP1 şi GP2.*

Boala Sandhoff este o variantă a bolii Tay-Sachs, caracterizată prin deficit de hexozaminidază A şi B şi acumulare de gangliozide şi globozide.

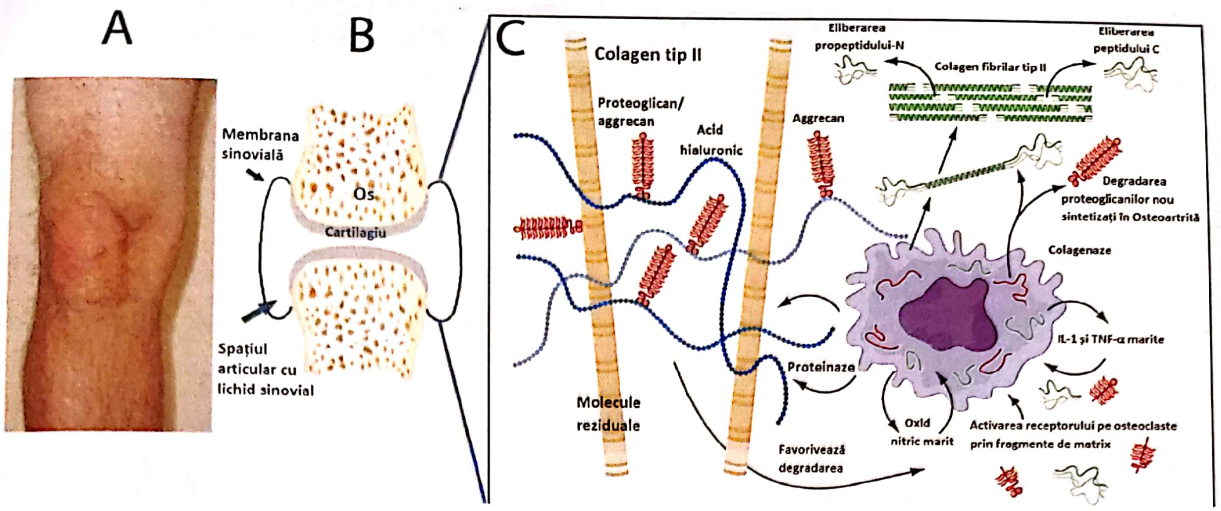
Boala Krabbe se caracterizează prin deficit de β-galactozidază şi acumulare de galactozil-ceramide.

Boala Niemann-Pick se caracterizează prindeficit de sfingomielinază şi acumularea de sfingomielină.

Gangliozidele

sunt lipide importante ale membranei neuronale, sunt generate din ceramide prin adiţia succesivă a unor resturi de glucoză, glactoză, galac-tozamină etc (Fig. 6.40).

Scanned with OKEN Scanner



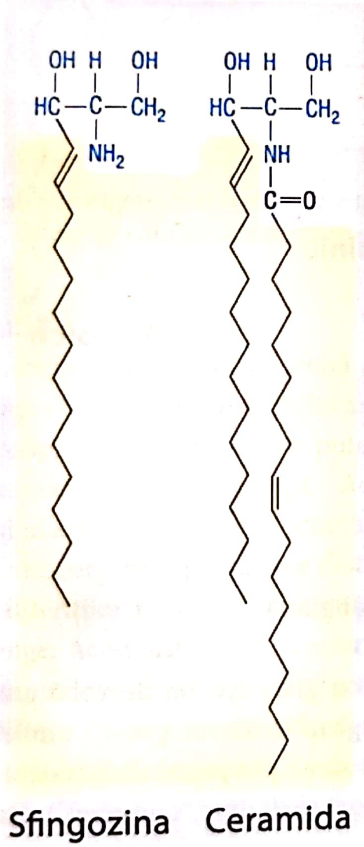


Figura 6.38 *Structura generală a sfingozinelor.*

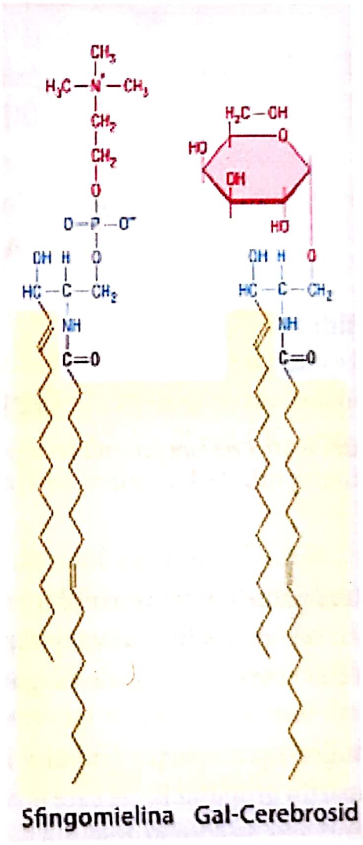


Figura 6.39 *Structura generală a sfingomielinelor.*

Grupele de sânge

Glicolipidele sunt implicate în comunicarea intercelulară. Alături de glicoproteinele, care prezintă resturi oligozaharidice identice și care se gasesc în membrana celulară, servesc drept factori de recunoaștere celulară.

Un exemplu îl constituie resturile oligozaharidice din compoziția glicolipidelor și glicoproteinelor ce se găsesc în membrana eritocitelor și care constituie antigene de grup sanguin (ABO), Fig. 6.41. Aceste structuri sunt identice, cu excepția tipului A care prezintă N-acetilgalactozamina (GalNAc) și a tipului B care prezintă galactoza.

Scanned with OKEN Scanner

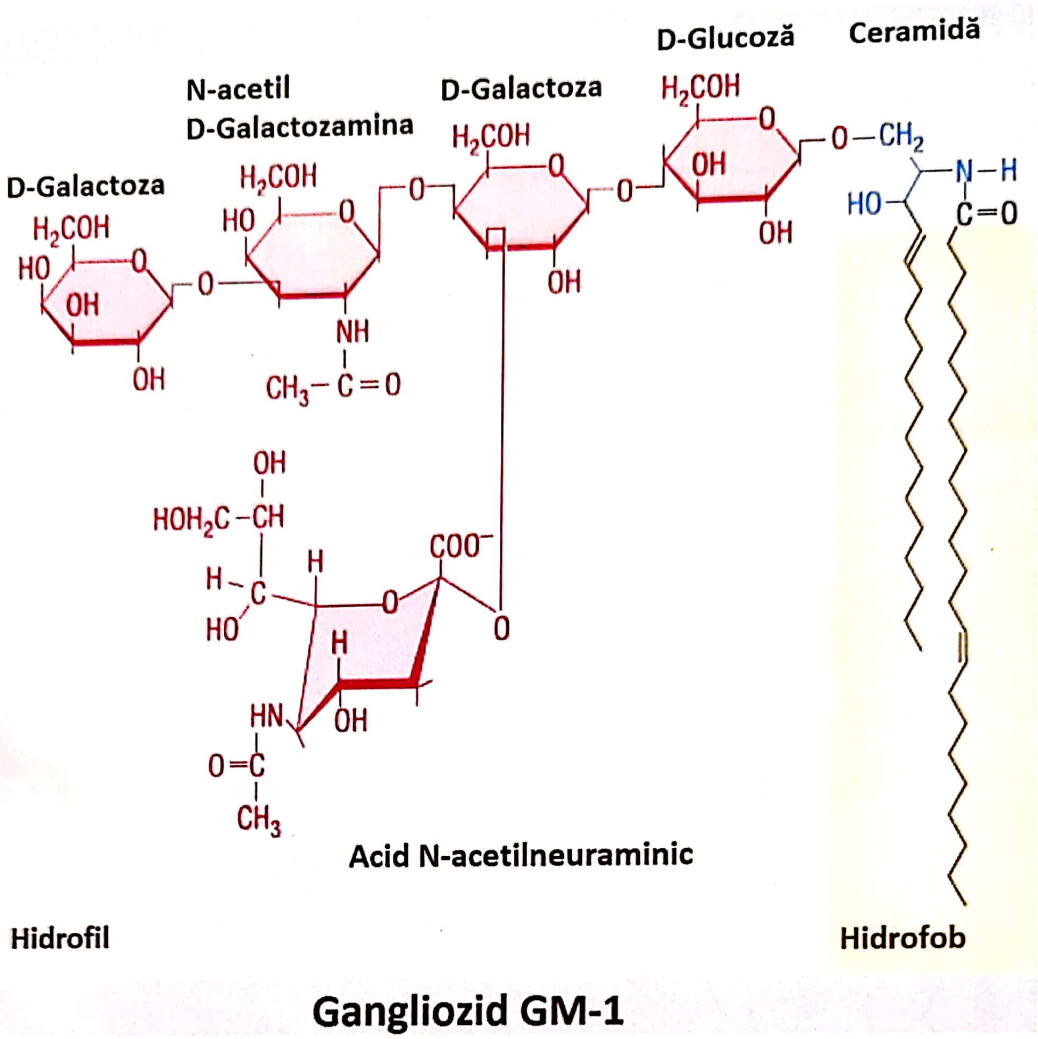


Figura 6.40 *Structura generală unui gangliozid*

Prin identificarea naturii determinanților antigenici cu ajutorul unor seruri specifice de grup sanguin, se pot determina cu certitudine grupele sanguine.

Indivizii cu antigen tip A aparțin grupului A, cei cu antigen tip B aparțin grupului B, cei care posedă ambele tipuri de antigene aparțin grupului AB. Absența acestor antigene este caracteristică grupului O.

Această clasificare este importantă în terapia ce necesită transfuzie de sânge. Anticorpii anti antigenA sau B apar în mod normal în sângele persoanelor care posedă aceste antigene pe suprafața eritrocitelor (persoanele cu antigen tip A prezintă în mod normal în ser anticorpi anti B și invers). Acești anticorpi pot activa întreaga cascadă a complementului având drept rezultat hemoliza intravasculară a eritrocitelor ce sunt introduse în organism prin transfuzia sanguină.

Persoanele cu grup AB nu dezvoltă anticorpi anti antigen de grup deoarece posedă ambele antigene (A și B), de aceea pot primi transfuzie de la oricare dintre grupuri (primitor "universal"). Deasemenea, cei care nu posedă nici un tip de antigen, grupul O, pot dona sânge poricăruia dintre grupuri (donator "universal") Fig. 6.42.

Antigenele de grup sangvin A și B sunt prezente nu numai la nivel eritrocitar, putându-se întânli în aproape toate țesuturile. Acestea sunt antigene importante de transplant și trebuie să fie luate în considerare împreună cu antigenle tisulare, când se efectuează transplantul de organe. Acest aspect are o importanță deosebită deoarece în mod normal, în funcție de grupa sangvină pot fi prezenți anticorpi

Scanned with OKEN Scanner

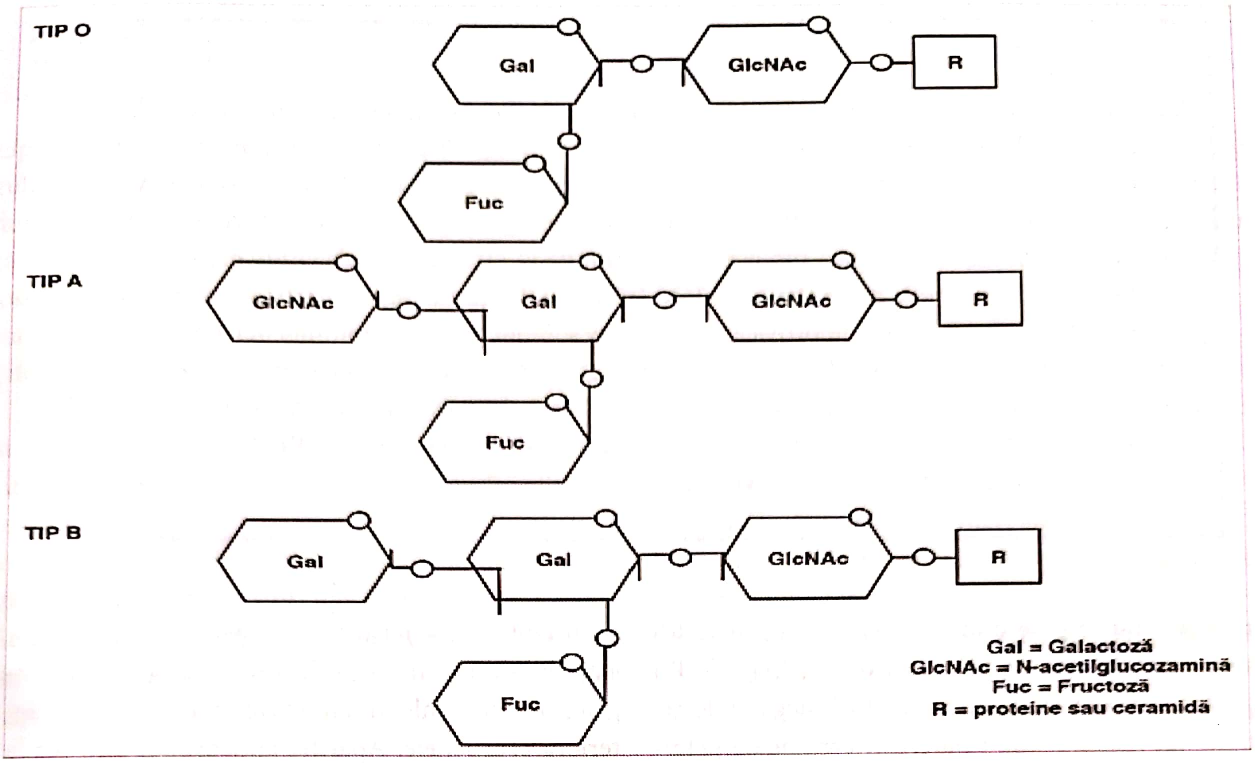


Fig. 6.41. Resturile oligozaharidice din compoziția glicolipidelor și glicoproteinelor ce se găsesc în membrana eritrocitelor, determina antigenele de grup sanguin (ABO).

anti-A și anti-B.

Cel de al-2-lea grup sanguin important este grupul Rh, datorită prezenței determinantului antigenic tip D, ce are proprietăți imunogenice puternice generând un număr mare de anticorpi. Acesta a fost definit folosind anticorpi anti-eritrocite la maimuțele Rhesus, un anticorp care poate face distincția între eritrocitele diferiților indivizi care aparțin aceleiași grupe de sânge. Acest sistem se caracterizează prin prezența sau absența unui singur antigen pe suprafața hematiilor, care reprezintă cele 2 tipuri Rh+ și Rh-. Acestea sunt determinate de două alele ale unui singur locus situate separat de locusul grupului ABO.

Astfel, un individ Rh+ poate fi homozigot (+/+) sau heterozigot (+/-), în timp ce un individ Rh- trebuie să fie homozigot (-/-). Tipul Rh – este destul de rar întânlit, la mai puțin de 15% din populație.

Datorită faptului că sistemul Rh segregă independent de cel ABO, se poate calcula frecvența oricărei combinații a tipului ABO si Rh. Astfel, dacă tipul A reprezintă 40% din populație și cel Rh numai 15%, atunci frecvența tipului A Rh- este dată de formula: 0.40 x 0.15= 0.06 sau aproximativ 6% din populație.

Anticorpii Rh, spre deosebire de cei pentru antige-

Tip eritrocit	O	A	B	AB
Genotip posibil	OO	AA sau AO	BB sau BO	AB
Anticorpi ser	anti-A sau -B	anti-B	anti-A	-
Frecventa	45%	40%	10%	5%
Transfuzie posibila	O	A, O	B, O	A, B, AB, O

Fig. 6. 42. Sistemul ABO de compatibilitate in cazul terapiilor ce necesită transfuzie de sânge.

Scanned with OKEN Scanner

Incompatibilitatea ABO

Dacă anticorpii materni pot afecta fătul în formare, de ce incompatibilitatea ABO nu este la fel de periculosă ca incompatibilitatea Rh. În mod normal, izoaglutininele ABO prezente la mamă afectează copilul chiar la prima sarcină? Răpunsul depinde de tipul de anticorpi produşi în cele două cazuri. Anticorpii anti-Rh apartin în principal clasei IgG şi provoacă de regulă un răspuns anti-peptidic tipic. Pot trece prin placentă şi pot ajunge în circulaţia fetală. Anticorpii naturali (izoaglutininele) A şi B fac parte din clasa IgM (răspuns tipic anti-carbohidraţi) şi nu pot trece prin placentă. Anticorpii IgG împotriva antigenelor A şi B pot aparea la anumite persoane rezultând o incompatibilitate ABO care reprezintă 2/3 din cazurile de boală hemolitică a nou născutului. Aceste cazuri reprezintă forme uşoare de boală şi necesită puţin tratament sau se pot rezolva şi fără tratament. Incompatibilitatea ABO este mai frecventă decât cea Rh, fiind mai puţin probabil să producă afectări semnificative.

nele AB, nu se găsesc în organism. Antigenele Rh sunt prezente doar la nivel eritrocitar. Celulele Rh pozitive transfuzate la un pacient Rh negativ determină un răspuns imun puternic, care poate determina reacţii importante la următoarele transfuzii. Deşi au un rol important în transfuzii, nu au rol în transplantul de organ, iar tipul de Rh al donatorului şi primitorului de organe nu are o semnificaţie deosebită.

Factorul Rh are o importanţă deosebită pentru interacţiunile materno-fetale. Dacă mama este Rh(-) poate naşte un copil Rh(+) dacă tatăl este Rh(+) (fie homozigot sau heterozigot). Deoarece nu există în mod normal anticorpi anti-Rh, în general nu există riscuri la prima sarcină. La momentul naşterii, leziunile tisulare rezultate în urma separării placentei de pereţii uterini poate determina trecerea unei cantităţi semificative de sânge fetal în circulaţia maternă, care va determina un răspuns imunogenic al mamei cu anticorpi anti-Rh din clasa IgG.
La a doua sarcină, anticorpii anti-Rh existenţi traversează placenta în timpul sarcinii şi distrug eritrocitele fetale, afectând diferite organe având ca rezultat eritroblastoza fetală (cunoscută şi sub numele de *Boala Hemolitică a nou Născutului, sau HDN*). Aceasta poate fi diagnosticată prenatal prin amniocenteză şi determinarea în lichidul amniotic a hemoglobinei libere sau a produşilor de degradare ai acesteia. Pot fi utilizate diferite mijloace terapeutice în timpul şi după naştere, inclusiv exsanguinotransfuzia- înlocuirea completă a sângelui pentru a înlocui anticorpii anti-Rh, fără a deteriora eritrocitele. Apariţia anticorpilor anti-Rh la o mama Rh negativă poate fi prevenită prin administrarea globulinei anti-Rh (ex. RhoGAM), în mod normal în a 28 săptămână de sarcină şi apoi la 72 de ore după naşterea unui copil Rh(+). Printr-un mecanism încă pe deplin cunocut, anticorpii reduc foarte mult probabilitatea de sensibilizare a sistemului imunitar al mamei la eritrocitele Rh+. Dacă această procedură, dezvoltată prin anii 1960, se aplică în timpul fiecărei sarcini Rh+, anticorpi anti-Rh nu apar la mamă, şi nu vor fi afectate nici sarcinile următoare.

Deşi incompatibilitatea Rh are o semnificaţie clinică considerabilă, nu toate cazurile netratate de sarcini incompatibile determină automat eritroblastoza fetală. Doar o mică parte a sarcinilor incompatibile determină apariţia anticorpilor anti-Rh materni şi doar o parte din aceste cazuri afectează semnificativ nou născutul.

Scanned with OKEN Scanner

7. LIPIDE

Lipidele reprezintă a treia mare clasă de macromolecule de o importanță vitală pentru organismul uman, după proteine și glucide. Deși lipidele sunt utilizate de către oameni încă din antichitate, studiul lor efectiv a fost inițiat abia în secolul al XIX-lea. Studiul întârziat s-a datorat, în parte, dificultăților de natură tehnică legate de separarea și identificarea compușilor lipidici.

În anul 1823, ME Chevreul a fost primul specialist care a introdus conceptul de acid gras, colesterol și glicerol, dovedind că lipidele sunt combinații ale glicerolului cu acizii grași. După ce a facut diferența între uleiuri, unt, grăsimi solide, rășini, uleiuri volatile, el a spus: "Se poate observa din descrierea anterioară faptul că termenul de corp gras este vag și pare imposibil de dat o definiție științifică a lui ".

Termenul "lipid" este atribuit unor compuși precum uleiuri, grăsimi și ceruri care prezintă o serie de proprietăți generale comune:

1. provin de la animale sau plante
2. sunt insolubile în apă dar solubile în solvenți organici precum cloroform, benzen, eter, acetonă
3. formează catene lungi alcătuite din carbon și hidrogen, dar pot conține și oxigen, fosfor, azot sau sulf

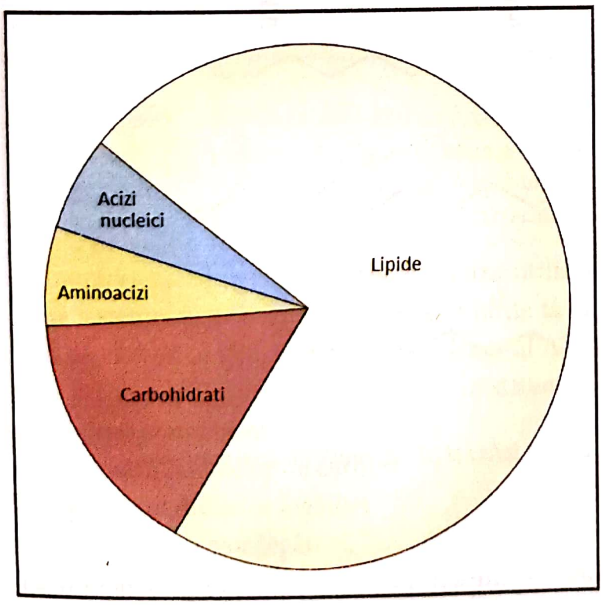


Figura 7.1. *Lipidele sunt componenta majoritară a plasmei cu o contribuție procentuală de circa 70%. Diagrama indică aminoacizii și acizii nucleici liberi din ser.*

În concluzie, lipidele pot fi definite ca molecule organice cu rol biologic care sunt insolubile în soluții apoase dar solubile în solvenți organici. Lipidele sunt componenta majoritară a plasmei cu o contribuție procentuală de circa 70% (Fig. 7.1).

Majoritatea lipidelor sunt acizi grași sau esteri ai acizilor grași. Pentru a simplifica studiul acestui vast grup de compuși este utilă o clasificare a lor în trei mari clase:

1. **Lipide simple** – sunt esteri ai unui alcool cu acizi grași, în functie de natura alcoolului acestea se subdivid la rândul lor în:
   - *gliceride (acilgliceroli)*– esteri ai glicerolului cu acizii grași.
   - *ceride*– esteri ai acizilor grași cu un alcool alifatic cu lanț lung.
2. **Lipide complexe** – în această categorie intră glicerofosfolipidele, sfingolipidele, glicolipidele, sulfolipidele, lipoproteinele.
3. **Derivați lipidici**– din acestă clasă fac parte compuși care rezultăprin hidroliza lipidelor complexe: *acizi grași, steroli, carotenoizi, vitaminele liposolubile* (A,D,E,K).

Lipidele îndeplinesc în organism numeroase roluri vitale, dintre acestea fac parte:

- depozit de energie sub formă de trigliceride
- intră în structura membranelor celulare
- au rol termoizolant și de protecție mecanică
- sunt precursori ai unor hormoni (steroizi și prostaglandine)
- au rol de antigene de suprafață
- sunt precursori ai sărurilor biliare

Lipide simple

Acizii Grași

Acizii grasi sunt alcătuiți dintr-o parte alifatică formată dintr-un număr relativ mare de atomi de carbon ("coada") și o parte hidrofilă formată dintr-o grupare carboxil ("cap"), care în condiții fiziologice este ionizată (asemănător detergenților) și încărcată negativ. Structura generală a acizilor grași este arătată în (Fig. 7.2A).

Scanned with OKEN Scanner

Acizii graşi apar într-o cantitate însemnată în organismele vii, dar foarte rar se găsesc în stare liberă. Ei se regăsesc de obicei în stare esterificată cu glicerol sau alt alcool. Îndeplinesc în organism câteva funcţii majore:

- intră în compoziţia membranelor celulare
- reprezintă componenta majoră a lipidelor de rezervă (trigliceridelor)
- sunt precursori ai eicosanoizilor

În funcţie de numărul atomilor de carbon din moleculă, lungimea acizilor graşi variază, aceştia putând fi clasificaţi astfel:

- acizi graşi cu lanţ scurt– între 2 şi 4 atomi de carbon
- acizi graşi cu lanţ mediu – între 6 – 10 atomi de carbon
- acizi graşi cu lanţ lung– între 12 -26 atomi de carbon

Majoritatea acizilor graşi din organism au între 14 – 24 atomi de carbon, aceştia fiind cei mai importanţi pentru metabolismul uman (Fig. 7.2B).

- acizi graşi *nesaturaţi*: ce conţin una sau mai multe duble legături în catenă

Dacă acidul gras prezintă o singură dublă legătura el mai este denumit şi mononesaturat, dacă prezintă mai multe duble legături se poate denumi polinesaturat. Acizii graşi pot fi denumiţi în cel puţin alte trei moduri.

Cei mai comuni *acizi graşi saturaţi* sunt: acidul stearic (conţine 18 atomi de carbon) şi acidul palmitic (cu 16 atomi de carbon). Acidul palmitic, este denumit şi în funcţie de numărul atomilor de carbon din moleculă ca acid hexadecanoic (Fig.7.2C).

Acidul stearic, este denumit şi octadecanoic şi se notează pe scurt: 18:0 (Fig. 7.2D).

Acizii graşi nesaturaţi sunt mai răspândiţi în natură decât cei saturaţi. Cel mai comun acid gras nesaturat este *acidul oleic* (Fig. 7.3A) care prezintă o dublă legătură la atomul de carbon 9.

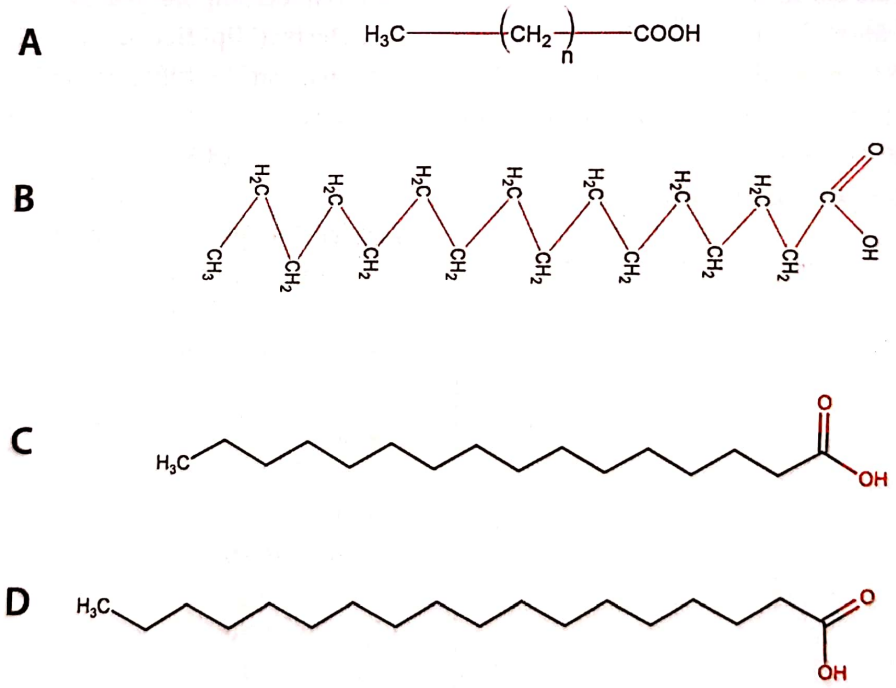


Figura 7.2. *Structura generală a acizilor graşi este arătată în(A) şi (B). Exemple de acizi graşi saturaţi sunt acizilor palmitic (C) şi stearic (D).*

În funcţie de structura lor acizii graşi se pot clasifica în:

- acizi graşi *saturaţi*: nu conţin duble legături în catenă

Dubla legatură din structura acizilor graşi nesaturaţi poate există în formă *cis* sau *trans*. Acizii graşi din organism prezintă izomerie de tip *cis*. În alimentaţie predomină grăsimile saturate de origine animală.

Scanned with OKEN Scanner

Începând cu anul 1970, numeroase studii de cercetare au evidenţiat consumul de grăsimi animale saturate ca un important factor de risc în apariţia bolilor cardiovasculare. "Compromisul" a fost apariţia margarinei, produs rezultat prin hidrogenarea parţială a grăsimilor vegetale, dar care duce la formarea izomerului *trans* ce nu poate fi metabolizat în organism (nu reprezintă un produs natural). Un exemplu de izomer trans, este acidul *elaidic* (Fig. 7.3B).

Nomenclatura uzuală cuprinde numărul de atomi de carbon din moleculă în cifre, urmat de 2 puncte şi de numărul dublelor legături din moleculă (indice de saturare), de exemplu 16:0. Acidul palmitic reprezintă produsul final în sinteza acizilor graşi la mamifere, pornind de la acidul palmitic se sintetizează apoi în organism restul acizilor graşi.

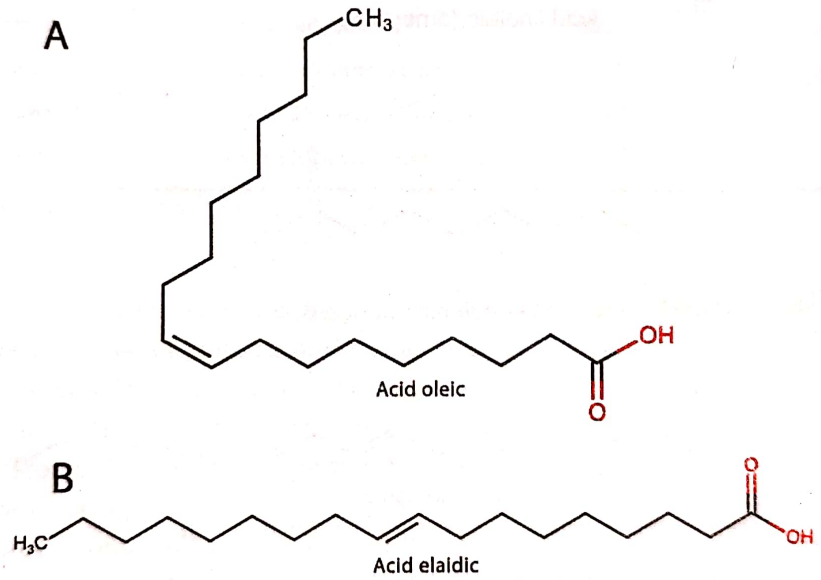


Figura 7.3. *Cel mai comun acid gras nesaturat este acidul oleic. Acesta prezintă o dublă legătură la atomul de carbon 9. Dubla legatură din structura acizilor graşi nesaturaţi poate exista în formă cis (acidul oleic) sau trans (acidul elaidic).*

Denumirea acizilor graşi se poate realiza utilizând două sisteme: prin numerotare începând de la atomul de carbon al grupării carboxil (sistemul Δ) sau de la cel al grupării metil (sistemul ω). În sistemul Δ, acizii graşi sunt abreviaţi în acord cu:

- numărul atomilor de carbon
- numărul dublelor legături
- poziţia dublelor legături.

De exemplu, acidul oleic, este denumit astfel: $18:1\Delta^9$. În sistemul ω, acidul oleic mai este denumit şi ca ω 9, datorită poziţiei dublei legături la atomul de carbon 9, care este cel mai apropiat de gruparea metil terminală (atomul de carbon ω). Clasificarea sistematică bazată pe denumirea chimică este cel de al 3-lea sistem de clasificare.

Dintre acizii graşi polinesaturaţi, acidul *linoleic* (Fig. 7.4A) şi acidul *linolenic* (Fig. 7.4B) sunt *acizi graşi esenţiali* deoarece nu pot fi sintetizaţi în organismul mamiferelor, ei fiind indispensabili pentru creşterea şi dezvoltarea organismului şi de aceea este necesar aportul lor prin dietă (vegetale sau carne de la animalele ce se hrănesc cu vegetale). Acidul linolenic are formula prescurtată: $18:3\Delta^{9,12,15}$.Acizii graşi ω6 din dietă provin în special din uleiurile vegetale şi sunt reprezentaţi de acidul *linoleic*, care este convertit de către organism în acid γ linolenic.

Acidul γ linolenic este precursorul acidului arahidonic de la care se sintetizează ulterior eicosanoizii (tromboxani, prostaglandine şi leucotriene). Acidul arahidonic nu se găseşte în plante şi este sintetizat în organismul mamiferelor din acidul linoleic. Este precursorul sintezei eicosanoizilor în organism, o clasă de compuşi precum prostaglandinele, care au efecte hormon-like în multe procese fiziologice din organism. Are formula, $20:4\Delta^{5,8,11,14}$ sau ω6, fiind un acid gras cu 20 de atomi de carbon (eicosa)(Fig. 7.4C).

Scanned with OKEN Scanner

În alimente se găsesc trei tipuri majore de acizi grasi ω3, care sunt utilizați de organism: acidul α *linolenic* (ALA), acidul *eicosapentaenoic* (EPA)(Fig. 7.5A)și un acid gras cu 22 de atomi de carbon, *docosahexaenoic* (DHA) (Fig. 7.5B) care se găsește în untura de pește.

Este importantă și sursa de alimente din care provin acizii grasi ω 3. Astfel, cei care provin din alimente de origine vegetală conțin în special acid linolenic ce trebuie ulterior convertit în organism în acizii eicosapentanoic și docosahexaenoic, pentru a putea fi utilizați.

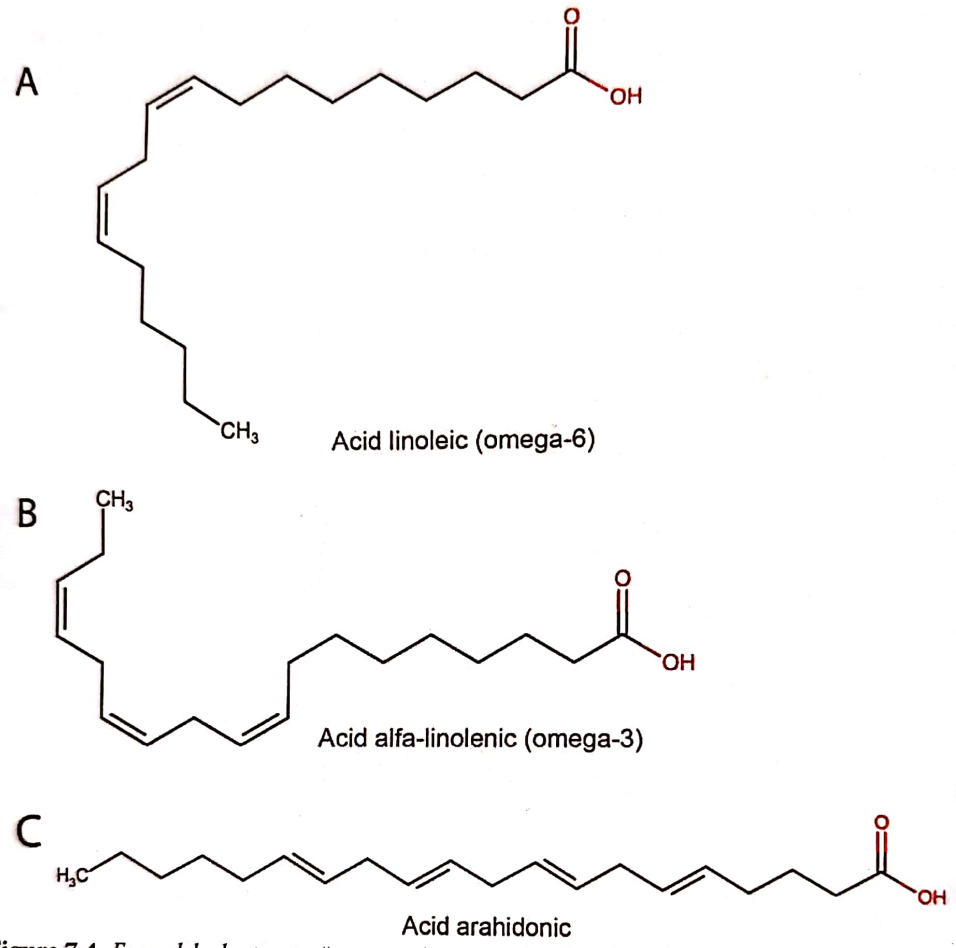


Figura 7.4. *Formulele de structură pentru câțiva acizi grași nesaturați comuni.*

Organismul transformă acidul linolenic în acid eicosapentanoic (EPA) și DHA pe care îi utilizează în sinteza unor compuși cu roluri importante în organism: în procesul inflamator, în expresia genică, în semnalizarea celulară etc.

Peștele conține predominant EPA și DHA. Acizii grași din pește, precum somonul (pești ce trăiesc la mare adâncime în ape reci), au cel puțin 6 duble legături și peste 20 de atomi de carbon și asigură fluiditatea membranelor celulare.

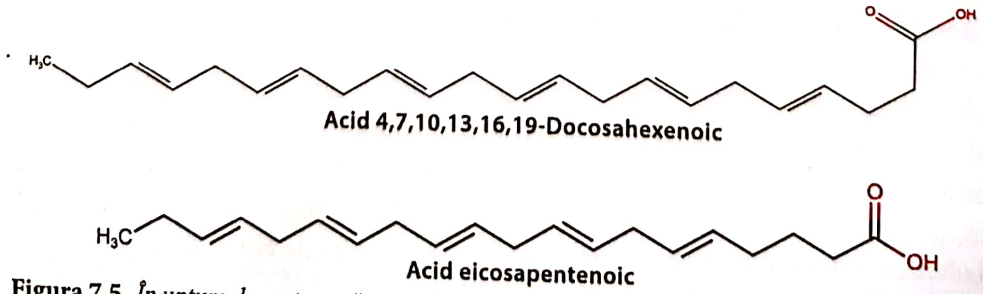


Figura 7.5. *În untura de pește se găsesc acizi grași ω3, acidul eicosapentaenoic (EPA)(A) și un acid gras cu 22 de atomi de carbon, docosahexaenoic (DHA) (B).*

Scanned with OKEN Scanner

Principalii acizi graşi saturaţi şi nesaturaţi de importanţa fiziologică sunt arătaţi în Tabelul 7.1.

Importanţa clinică a acizilor graşi nesaturaţi

Lipidele si lipoproteinele sunt implicate în dezvoltarea aterosclerozei, proces patologic ce stă la baza apariţiei bolilor cardiovasculare precum: infarctul miocardic şi bolile cerebro-vasculare.

Un factor important este şi acela că acizii graşi ω3 şi ω6 intră în competiţie în vederea integrării în membranele celulare.

Atunci când celulele primesc stimuli externi, acidul arahidonic este eliberat la nivelul membranelor celulare şi serveşte drept precursor în sinteza leukotrienelor (LT) (Fig. 7.6), tromboxanilor (TX) (Fig. 7.7) şi prostaglandinelor (PG) (Fig. 7.8).

Tabel 7.1 *Principalii acizi graşi saturaţi şi nesaturaţi de importanţă fiziologică*

Principalii acizi graşi din ţesutul uman			
Denumire comună	Denumire sistematică	Sistemul Δ	Sistemul ω
Lauric	Dodecanoic	12:0	-
Miristic	Tetradecanoic	14:0	-
Palmitic	Hexadecanoic	16:0	-
Palmitoleic	9-hexadecenoic	$16:1\Delta^{9}$	ω7
Stearic	Octadecanoic	18:0	-
Oleic	9-Octadecenoic	$18:\Delta^{9}$	ω9
Linoleic*	9,12 – Octadecadienoic	$18:\Delta^{9,12}$	ω6
Linolenic*	9,12,15- Octadecatrienoic	$18:\Delta^{9,12,15}$	ω3
Arahidonic	5,8,11, 14 Eicosatetraenoic	$20:\Delta^{5,8,11,14}$	ω6

* Acizi graşi esenţiali (după TIETZ, 2008)

Aterocleroza, principală cauză a bolilor coronariene şi cerebrovasculare, are la bază un proces inflamator cronic în care mecanismele imune interacţionează cu factorii de risc metabolici, iniţiind şi activând leziunea vasculară. Tromboza arterială, o complicaţie acută care se dezvoltă la suprafaţa unei placi ateromatoase rupte sau ca o consecinţă a eroziunii endoteliale poate cauza un infarct miocardic sau a unui accident vascular ischemic.

Acizii graşi polinesaturaţi în special cei de tip ω3 şi ω6, sunt încorporaţi în organism în structura membranelor celulare. Este cunoscut faptul că lipidele membranare servesc drept sursa de precursori în sinteza unor molecule importante în semnalizarea celulară (creşterea şi dezvoltarea celulară, reacţia inflamatorie).

Din aceste motive orice schimbare în dietă ce duce la scăderea concentraţiei acizilor graşi nesaturaţi are consecinţe profunde asupra funcţiilor celulare.

Leucotrienele (termenul „leuko" provine de la leucocite şi "trienes", trei duble legături conjugate) cuprind o familie de 5 lipooxigenaze implicate în metabolismul acidului arahidonic. Cisteinil leucotrienele C4, D4 şi
E4 cu activitate biologică au fost numite iniţial „substanţe cu reactivitate redusă la anafilaxie".
Leucotrienele sunt sintetizate ca răspun la un spectru larg de agenţi infecţioşi şi cresc capacitatea de apărare antimicrobiană a macrofagelor şi neutrofilelor. La oameni au fost descrise deficite de leucotriene la pacienţii infectaţii cu HIV şi la cei cu malnutriţie protein-calorică. Leucotrienele sunt responsabile de apariţia unor răspunsuri celulare ca: durere, activarea leucocitelor şi plachetelor sanguine, bronhoconstricţie etc.

De notat eficacitatea terapeutică a antagonistilor receptorului pentru "cysteinyl leukotriene" în tratamentul astmei. Aceste răspunsuri celulare sunt ţinta multor agenţi terapeutici precum antiinflamatoarele nesteroidiene, inhibitori ai ciclooxigenazei 2, antagonişti ai leucotrienelor.

Scanned with OKEN Scanner

Acizii graşi ω3 influenţează răspunsul inflamator deoarece înlocuiesc acidul arahidonic la nivelul membranei celulare şi intră în competiţie cu acidul arahidonic la situsul activ al enzimei ce îl transformă în eicosanoizi, inhibând-o.

De aceea beneficiul unei diete în care predomină acizii graşi ω3 este acela de a scădea răspunsul inflamator şi de a reduce eliberarea de tromboxan un stimulator puternic al coagulării sângelui.

Neuroprotectinul D1 (NPD1) sintetizat din acidul docosahexaenoic, are un rol important în dezvoltarea unor noi strategii terapeutice de prevenire a bolilor neurodegenerative având efect neuroprotector (Mukherjee et al., 2007).

Studii recente arată o importantă deosebită a neuroprotectinului D1 în menţinerea integrităţii fotoreceptorilor şi în consecinţă a vederii (Mukherjee et al., 2007).

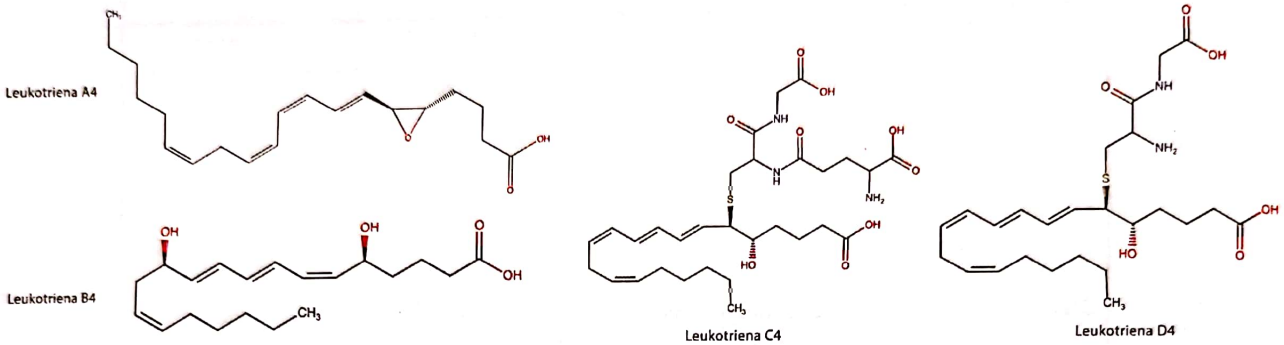


Figura 7.6. *Formulele de structură pentru câteva leukotriene des întâlnite în organismul uman.*

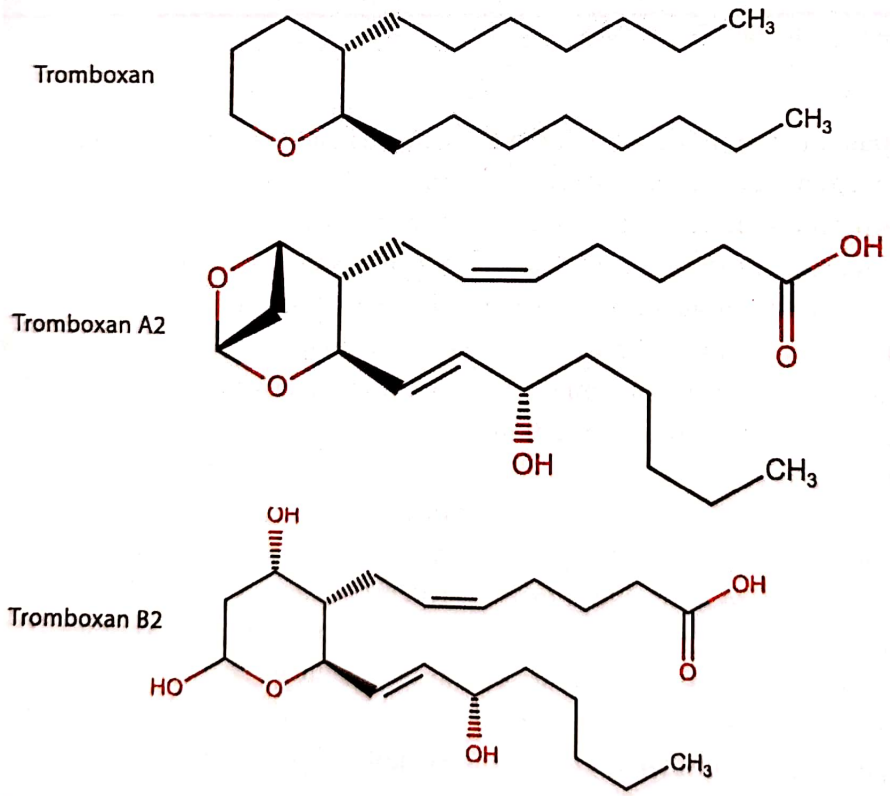


Figura 7.7. *Formulele de structură pentru câţiva tromboxani des întâlniţi în organismul uman.*

Cel mai important rol al acizilor graşi ω3 în organism este acela de precursor în sinteza unor molecule cu rol anti-inflamator numite resolvine şi protectine.

O combinaţie raţională de acizi grasi ω3 şi ω6, are un beneficiu cert în ceea ce priveşte prevenţia primară şi secundară a bolilor cardiovasculare, raportul optim fiind de 3:1 (Das, 2008).

Scanned with OKEN Scanner

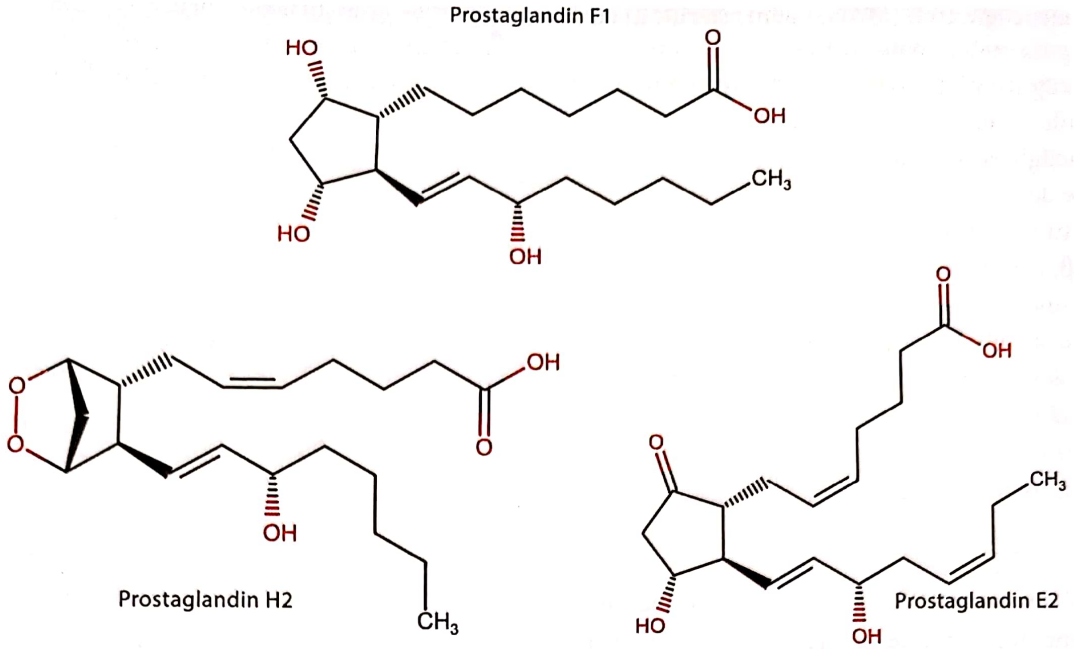


Figura 7.8. *Formulele de structură pentru câteva prostaglandine des întâlnite în organismul uman.*

Patobiochimie

Incidența bolilor cardio-vasculare este corelată cu o dieta bogată în acizi grași saturați. Prin contrast, o dietă care este relativ bogată în acizi grași nesaturați, în special în acizi grași polinesaturați, poate reduce riscul de infarct miocardic și accident vascular cerebral. De asemenea *acizii grași trans, prezenți în margarină*, intră și ei în categoria factorilor de risc în bolile cardiovasculare.

Numeroase studii au evidențiat rolul acizilor grasi trans în *creșterea* LDL colesterol, scăderea HDL colesterol și creșterea trigliceridelor.

Determinarea acizilor grași liberi reprezintă un indicator util în diagnosticul tulburărilor metabolismului lipidic și în stabilirea etiologiei unei hiperlipoproteinemii. Acidul docosahexaenoic are un rol critic în structura și funcția celulelor sistemului nervos, deficitul acestuia este asociat cu declinul cognitiv o dată cu îmbătrânirea și în bolile neurodegenerative (boala Alzheimer)(Lukiw et al., 2008).

Acizii grași polinesaturați administrați împreună cu statinele, potențează acțiunea acestora cu efect benefic asupra nivelului colesterolului, al aterosclerozei, bolilor cardiovasculare, osteoporozei, boala Alzheimer, unor boli inflamatorii precum lupusul,-depresia, schizofrenia (Das, 2008).

Ca răspuns la presupunerile referitoare la prevalența scăzută a bolilor coronariene la echimoșii din Groenlanda (Inuits), Bang și Dyerberg au realizat șase expediții în Groenlanda începând din 1960. Ei au confirmat o incidență scăzută a infarctului miocardic și un patern antiaterogenic al lipidelor sangvine, precum și o reactivitate plachetară redusă la această populație daneză. Aceste efecte au fost atribuite dietei bogată în acizi grași n-3. provenită în principal din focă și balene. Prevalența bolilor inflamatorii și imune la eschimoși fiind foarte scăzută, Dyerberg și colegii prezintă in 1978 ipoteza conform căreia acizii grași n-3 de provenință marină ar putea proteja împotriva ateroclerozei și trombozei, și au început cercetări referitoare la efectului acizilor n-3 în prevenția și tratamentul bolilor vasculare.

Acilglicerolii

Se mai numesc și gliceride sau grăsimi neutre și sunt esteri ai glicerolului (scheletul de bază) cu acizii grași (grupări acil), de aici și denumirea de acilgliceroli (Fig. 7.9A). În funcție de numărul grupărilor acil din compoziție, acilglicerolii se pot clasifica astfel:

Scanned with OKEN Scanner

1. monoacilgliceroli (MAG) - sunt esterificați cu o singură moleculă de acid gras
2. diacilgliceroli (DAG) – esterificați cu două molecule de acid gras;
3. triacilgliceroli (TAG) – esterificați cu trei molecule de acid gras.

În structura trigliceridelor, atomul de carbon 2 este atomul β, subtituentul fiind dispus în partea stânga a scheletului de atomi de carbon. Radicalul R din structura acilglicerolilor poate să fie diferit ca în cazul dioleilpalmitoinei (Fig. 7.9B) sau identic ca în cazul trioleinei (Fig. 7.10). Triacilglicerolii intră în alcătuirea lipidelor de rezervă, în special a țesutului adipos cu rol mecanic și termic.

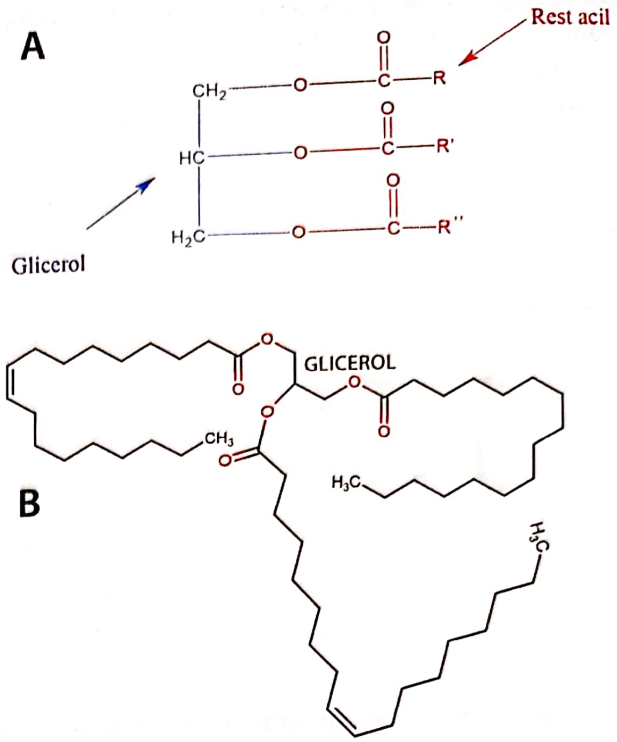


Figura 7.9. *Formulele de structură generală a unui triacilglicerol (A) și a dioleilpalmitoinei (B).*

Lipodistrofiile

sunt boli cu transmitere ereditară sau dobândite, heterogene din punct de vedere clinic, caracterizate prin *pierderea selectivă a țesutului adipos*. Pacienții cu aceste afecțiuni au o predispoziție pentru insulino-rezistență și complicațiile acesteia, diabet zaharat, dislipidemie, steatoză hepatică și "acanthosis nigricans"- o afecțiune cutanată care se manifestă în

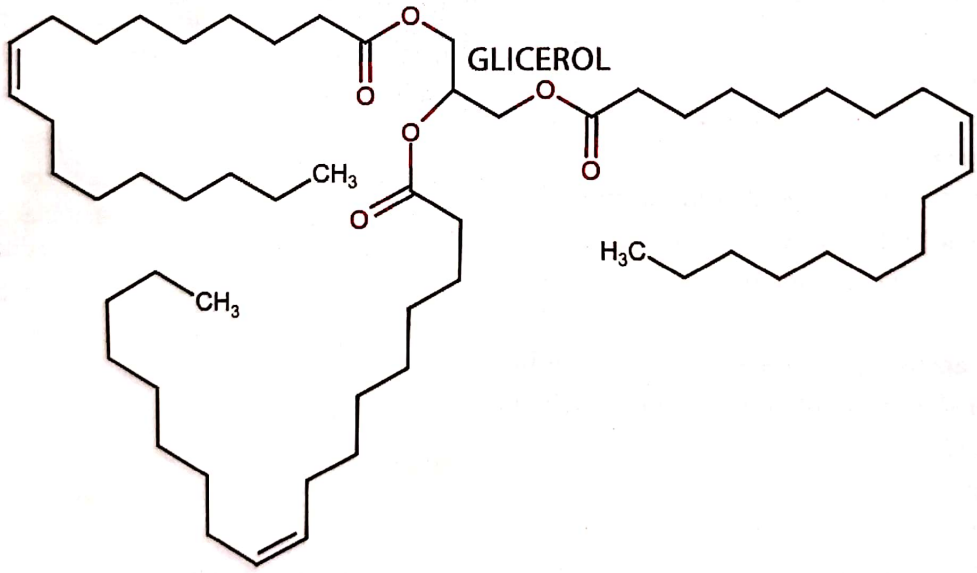


Figura 7.10 *Formula de structură a trioleinei.*

anumite regiuni corporale, prin îngroșarea pielii (hiperkeratoză) și colorarea întunecată a ei (hiperpigmentare). Femeile cu lipodistrofie pot prezenta hirustism, oligomenoree și ovare polichistice. La peste un secol de când tabloul clinic a fost pentru prima dată descris, mecanismele moleculare și celulare ale lipodistrofiilor au început să fie înțelese abia de curând. Mecanismele genetice ale lipodistrofiilor au fost elucidate prin caracterizarea sistematică a fenotipurilor bazată pe caracteristici clinice distincte și patternul unic de distribuție a țesutului adipos, dar și prin folosirea unor tehnici de cercetare

Scanned with OKEN Scanner

din domeniul biologiei moleculare și secvențierea genomului uman. Lipodistrofia se caracterizează prin pierderea țesutului subcutanat de la nivelul feței, brațelor și picioarelor, fiind observată la pacienții infectați cu virusul imunodeficienței umane (HIV) aflați sub terapie antivirală în doză mare cu inhibitori de protease (Fig. 7.11).

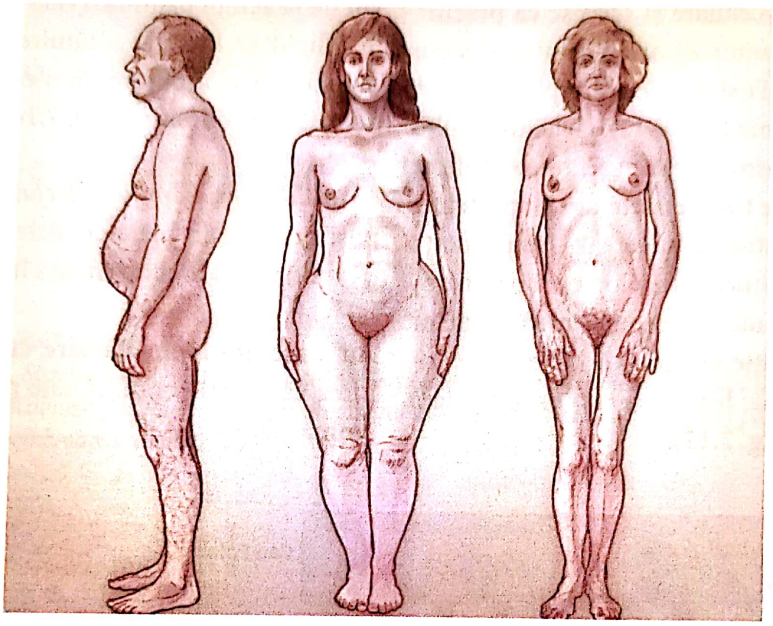


Figura 7.11. *Lipodistrofia se caracterizează prin pierderea țesutului subcutanat de la nivelul feței, brațelor și picioarelor, fiind observată la pacienții infectați cu virusul imunodeficienței umane (HIV) aflați în terapie antivirală în doză mare cu inhibitori de protease. modificat după N Engl J Med 350:1220-34, 2004.*

Scanned with OKEN Scanner

Lipide complexe

Glicerofosfolipidele

Glicerofosfolipidele constituie principala componentă a membranelor celulare și servesc ca precursor al moleculelor de semnalizare în multe procese celulare și fiziologice. Fosfolipidele din plasmă sunt numeroase și heterogene (Fig. 7.12). Cele mai multe dintre fosfolipidele plasmatice sunt secretate de ficat și sunt distribuite între toate clasele de lipoproteine. Diversitatea lor structurală sugerează importanța lor pentru mai multe procese fiziologice și patofiziologice. Sunt componente majore ale membranelor celulare, au o distribuție asimetrică între fața citoplasmatică (cytoplasmic leaflet) și fața extracelulară (exoplasmic leaflet)(Fig. 7.12).

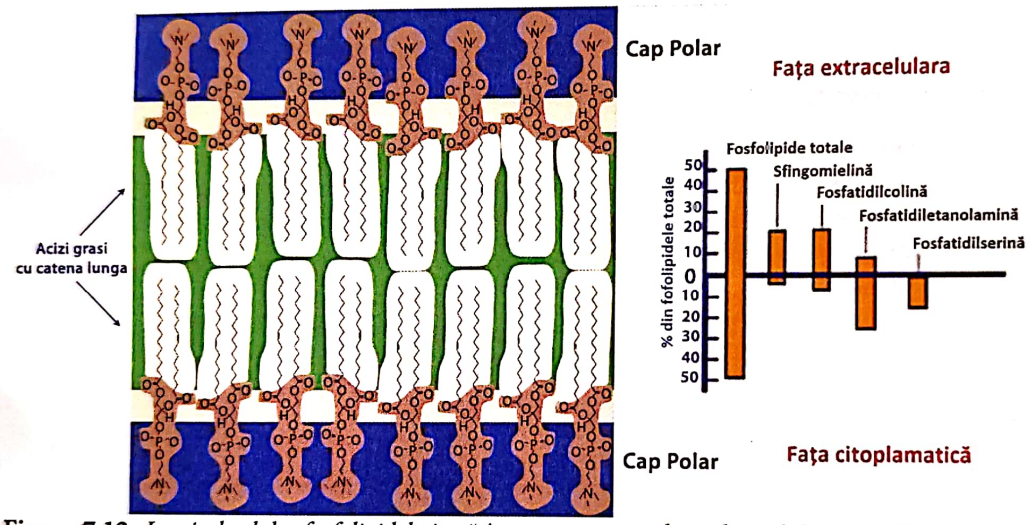


Figura 7.12. *La nivel celular fosfolipidele intră în structura membranelor celulare având o distribuție asimetrică. Fosfolipidele polare sunt distribuite majoritar spre fața extracelulară în timp ce fosfolipidele relativ neutre ca fosfatidiletanolamina sau fosfatodilserina sunt orientate majoritar spre fața citoplasmatică.*

Structura de bază de la care se formează fosfolipidele este *acidul fosfatidic* (X = hidrogen)(Fig. 7.13A).

Fosfatidilcolinele *(lecitinele, PC)* sunt reprezentantul major al fosfolipidelor, ajungând până la 50% din compoziția membranelor celulare, fiind prezenteîn special pe fața extracelulară (Fig. 7.13B). Denumirea de fosfatidilcoline indică faptul că în structura de bază derivată de la **acidul fosfatidic**, face parte **colina** (Fig. 7.13B). Lecitina este și principalul fosfolipid din plasmă, intrând în alcătuirea lipoproteinelor (high density lipoprotein HDL).

Dacă în structura lecitinei cele două resturi acil provin de la acidul palmitic (vezi mai sus) se obține un fosfolipid ce intră în alcătuirea surfactantului pulmonar cu rol important în mecanica respirației, numit dipalmitoilecitina(Fig. 7.14).

Fosfatidiletanolaminele *(cefalinele, PE)* sunt compuși prezenți în toate celulele organismului alături de lecitine, cu predominanță în țesutul cerebral.

Au structură asemănătoare cu lecitinele cu deosebirea că substituentul X este reprezentat de etanolamină (Fig. 8.15A).

Fosfatidiletanolaminele sunt neutre la pH fiziologic și conțin resturi acil derivați de la acidul palmitic sau stearic la atomul de carbon 1 și de la un acid gras nesaturat cu lanț lung la atomul de carbon 2 (Fig. 7.15B).

Fosfatidilserinele *(PS)* conțin în structura lor serină în locul etanolaminei, iar resturile acil sunt similare cu cele ale cefalinelor (Fig. 7.16). La pH fiziologic, fosfatidilserinele sunt încărcate negativ.

Scanned with OKEN Scanner

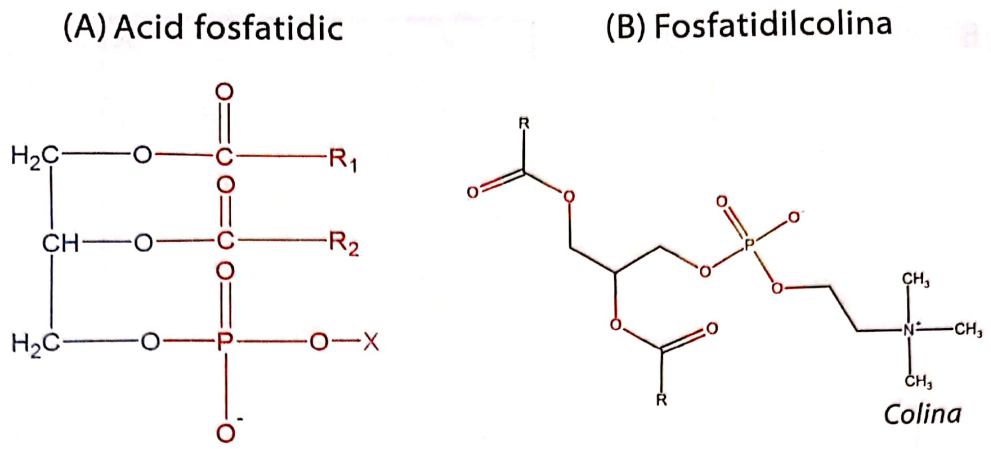


Figura 7.13. *Structura de bază de la care se formează fosfolipidele este acidul fosfatidic (X = hidrogen) (A). Fosfatidilcolinele (lecitinele) sunt reprezentantul major al fosfolipidelor, ajungând până la 50% din compoziția membranelor celulare (B).*

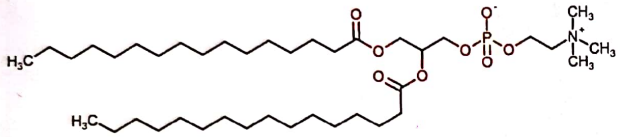


Figura 7.14. *Dipalmitolecitina intră în alcătuirea surfactantului pulmonar cu rol important în mecanica respirației.*

Fosfatidilinozitolul *(PI)* conține inozitol nefosforilat (un alcool ciclic cu 6 atomi de carbon) ca radical X, iar acizii grași sunt aproape în exclusivitate acidul stearic la atomul de carbon 1 și acidul arahidonic la atomul de carbon 2 (Fig. 7.17A). La nivelul membranelor celulare fosfatidilinozitolul se găsește sub formă fosforilată la grupările hidroxil ale inozitolului. Aceste molecule sunt denumite și polifosfoinozitide.

Fosfatidilinozitol 4,5 bifosfatul (PIP2), este un polifosfoinozitid important pentru membranele celulare, fiind implicat în transmiterea semnalelor de creștere și dezvoltare celulară inițiate din exteriorul celulei 8 (Fig. 7.17B).

Fosfatidilglicerolul *(PG)* este fosfolipidul majoritar la nivelul membranei mitocondriale, intră în compoziția surfactantului pulmonar alături de lecitine și este precursor în sinteza altei categorii de lipide și anume a difosfatidilglicerolilor (*DFG*).

Difosfatidilglicerolii sunt componente ale surfactantului pulmonar și se găsesc predominant la nivelul membranei mitocondriale interne. La pH fiziologic sunt încărcate puternic negativ. O categorie importantă a difosfatidilglicerolilor o constituie cardiolipinele. Acestea au o structură dimerică(Fig. 7.18).

Plasmalogeni

Plasmalogenii sunt eteri ai fosfolipidelor cu glicerolul, și anume în structura lor gruparea alcoolică din glicerol este legată prin legătură de tip eter de un alcool alifatic superior. Radicalul X este de regulăetanolamina. Considerate inițial curiozități științifice, au devenit importante o dată cu descoperirea implicării lor în apariția cancerului.

Plasmalogenii pot fi de două tipuri în funcție de tipul legăturii eterice: de tip alchil eter (-O-CH2-) (Fig. 7.19A) sau vinil eter (-O-CH=CH-)(Fig. 7.19B).

Un reprezentant important al acestei clase este factorul activator al plachetelor sanguine *PAF* (platelet activating factor), care este o moleculă implicată în semnalizarea celulară, capabilă să inducă un răspuns celular la concentrații foarte mici (Fig. 7.20). *PAF* are rol de mediator în stările de hipersensibilitate (inflamație acută și șoc anafilactic).

Scanned with OKEN Scanner

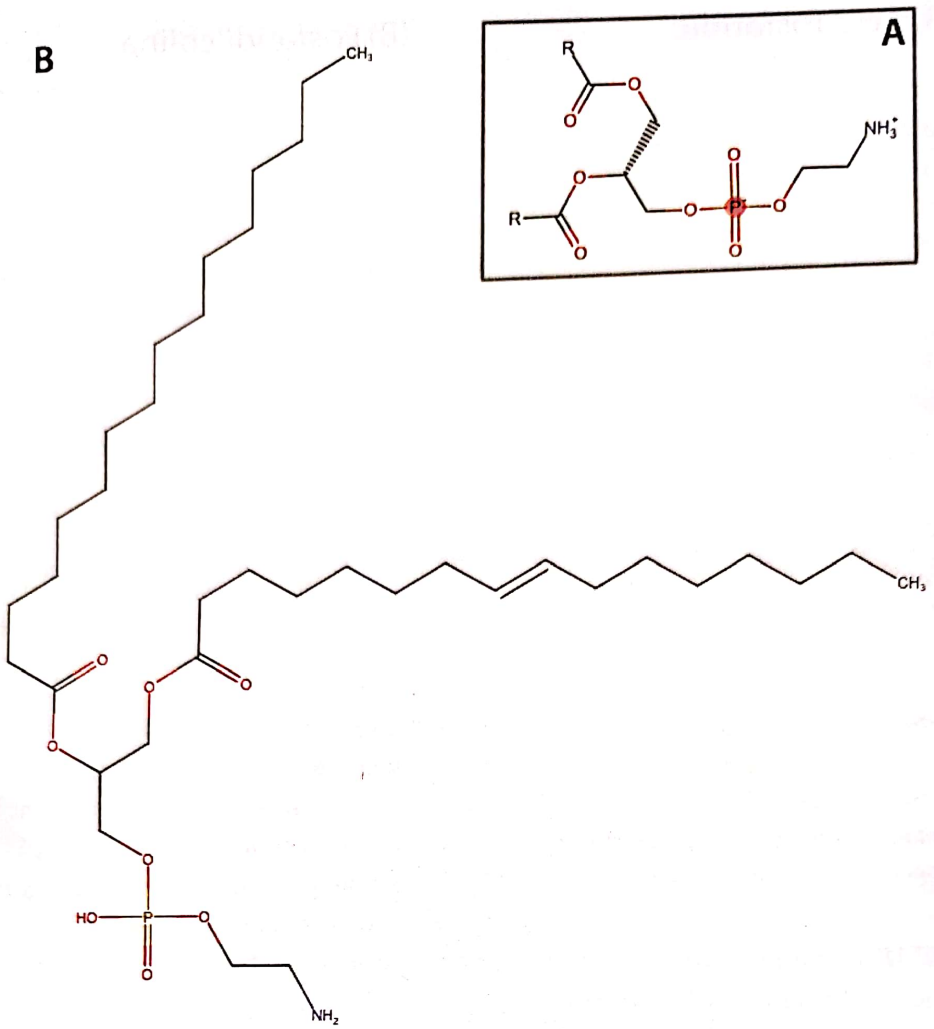


Figura 7.15. *Formula de structură generală a fosfatidiletanolaminelor (cefaline)(A). Fosfatidiletanolaminele conțin resturi acil derivați de la acidul palmitic sau stearic la atomul de carbon 1 și de la un acid gras nesaturat cu lanț lung la atomul de carbon 2 (B).*

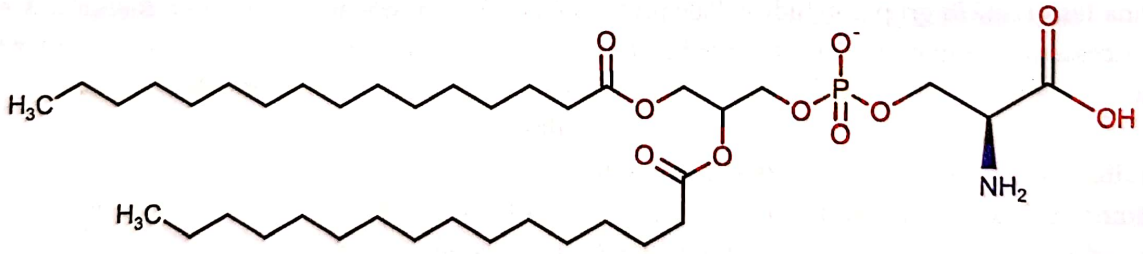


Figura 7.16. *Dipalmitoilfosfatidilserina conține în structura sa serină în locul etanolaminei, iar resturile acil sunt similare cu cele ale cefalinelor.*

Sfingolipide

Sunt lipide complexe care au la bază un aminoalcool derivat de la glicerol numit *sfingozina* (Fig. 7.21). Prin legarea acizilor grași la gruparea amino (-NH_2) a sfingozinei (N-acetilare) se formează o clasă de compuși numiti *ceramide*. *Sfingomielina* este sfingolipidul major care intră în alcătuirea tecilor de mielină ce învelesc fibrele nervoase.

Sfingomielina este alcătuită dintr-o molecula de ceramidă care are un rest de fosforilcolina în poziția 1. Sfingomielina predomină în structura membranelor celulare de la nivelul creierului.

Acidul gras din structura ceramidei este de obicei acid palmitic sau stearic (Fig. 7.22).

Scanned with OKEN Scanner

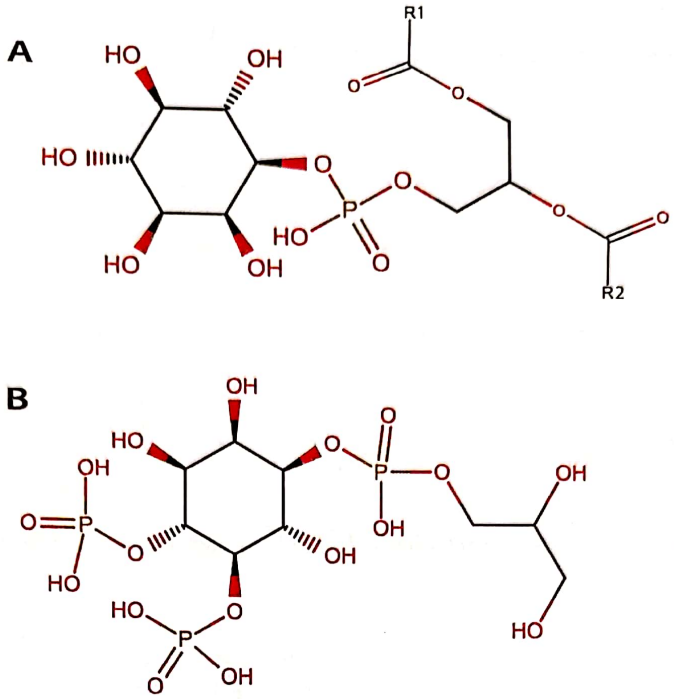


Figura7.17. *Fosfatidilinozitolul conține inozitol iar acizii grași sunt aproape în exclusivitate acidul stearic la atomul de carbon 1 și acidul arahidonic la atomul de carbon 2 (A).Fosfatidilinozitol 4,5 bifosfatul, este un polifosfoinozitid implicat în transmiterea semnalelor de creștere și dezvoltare celulară (B).*

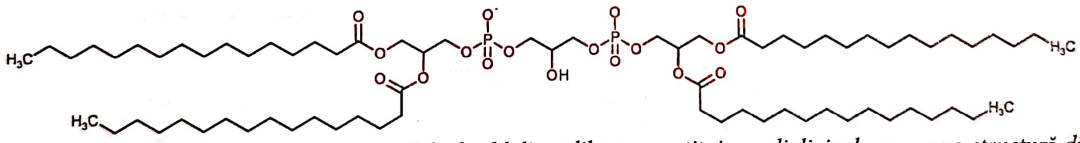


Figura 7.18. *O categorie importantă a difosfatidilglicerolilor o constituie cardiolipinele care au o structură dimerică.*

În afara sfingomielinei, o altă clasă majoră de sfingolipide sunt glicosfingolipidele, care conțin zaharuri atașate de ceramidă. Glicosfingolipidele se pot clasifica în patru clase majore:

1. cerebrozide – care conțin un singur rest de galactoză în structura lor (Fig. 7.23A).
2. sulfatide – sunt esteri cu acidul sulfuric ai galactocerebrozidelor (Fig. 7.23B).
3. globozide – conțin 2 sau mai multe resturi de glucide în structura lor, predominant galactoză, glucoză sau NacGal.
4. gangliozide – sunt similare cu globozidele dar conțin în plus acid sialic (NANA).

Gangliozidele și cerebrozidele se găsesc în cantitate mare la nivelul terminațiilor nervoase și se presupune că intervin în transmiterea impulsului nervos. Unele dintre acestea fiind responsabile și de specificitatea de grup sanguin (vezi cap. GLUCIDE). Numele specific gangliozidelor ne arată informații despre structura lor. Litera G se referă la gangliozid, literele M,D,T,Q ne arată că aceste molecule conțin în structura lor acid mono-, di, tri și tetrasialic, iar cifrele 1,2 si 3 se referă la secvență glucidică ce este atașată ceramidei.De exemplu, gangliozidul GM1 prezintă la nivelul enterocitelor o porțiune glucidică care este locul de atașare al toxinei holerice (Fig. 7.24).

Scanned with OKEN Scanner

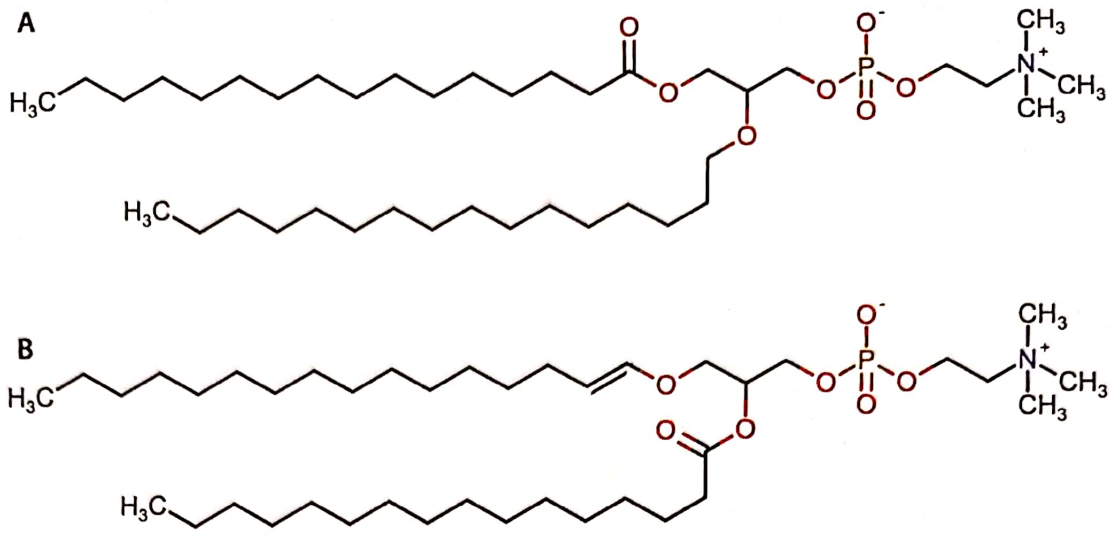


Figura 7.19. *Plasmalogenii sunt eteri ai fosfolipidelor cu glicerolul si pot fi de tip alchil eter (-O-CH2-) (A) sau vinil eter (-O-CH=CH-)(B).*

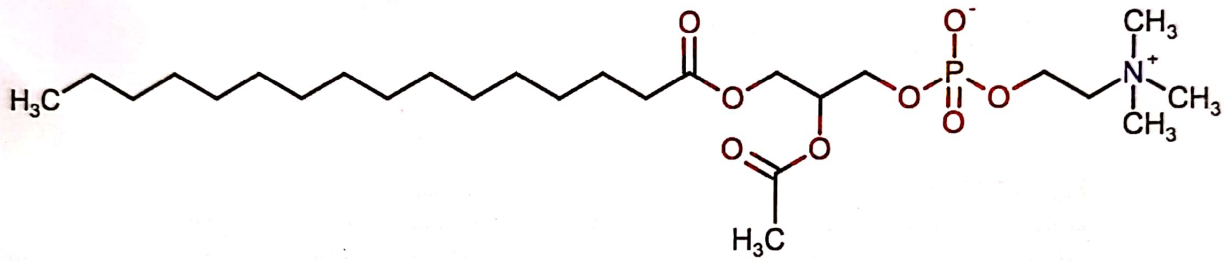


Figura 7.20. *Un plasmalogen important este factorul activator al plachetelor sanguine PAF (platelet activating factor), cu rol de mediator în inflamația acută și șocul anafilactic.*

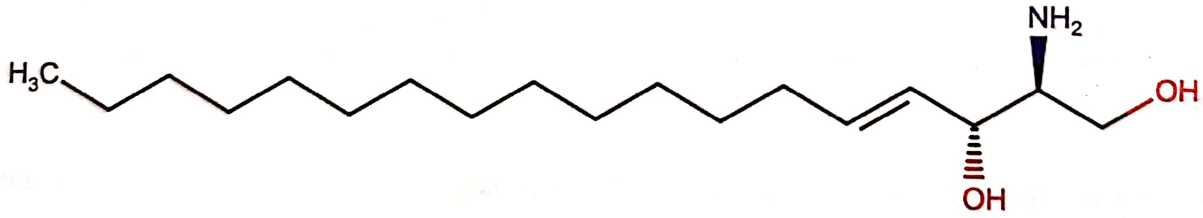


Figura 7.21. *Sfingolipidele sunt lipide complexe care au la bază un aminoalcool derivat de la glicerol numit sfingozina.*

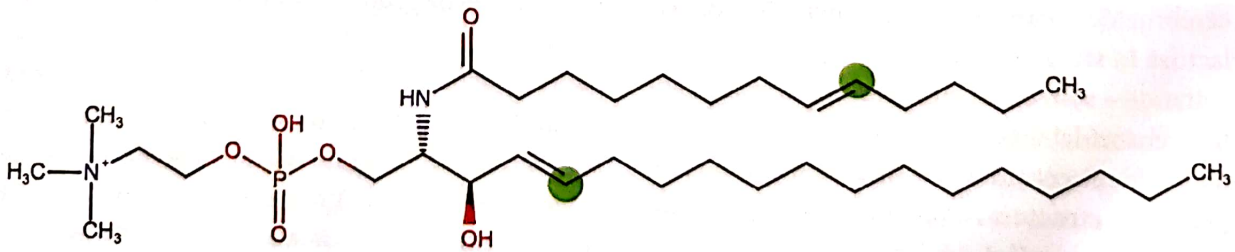


Figura 7.22. *Sfingomielina este alcătuita dintr-o moleculă de ceramidă care are un rest de fosforilcolina în poziția 1.*

Scanned with OKEN Scanner

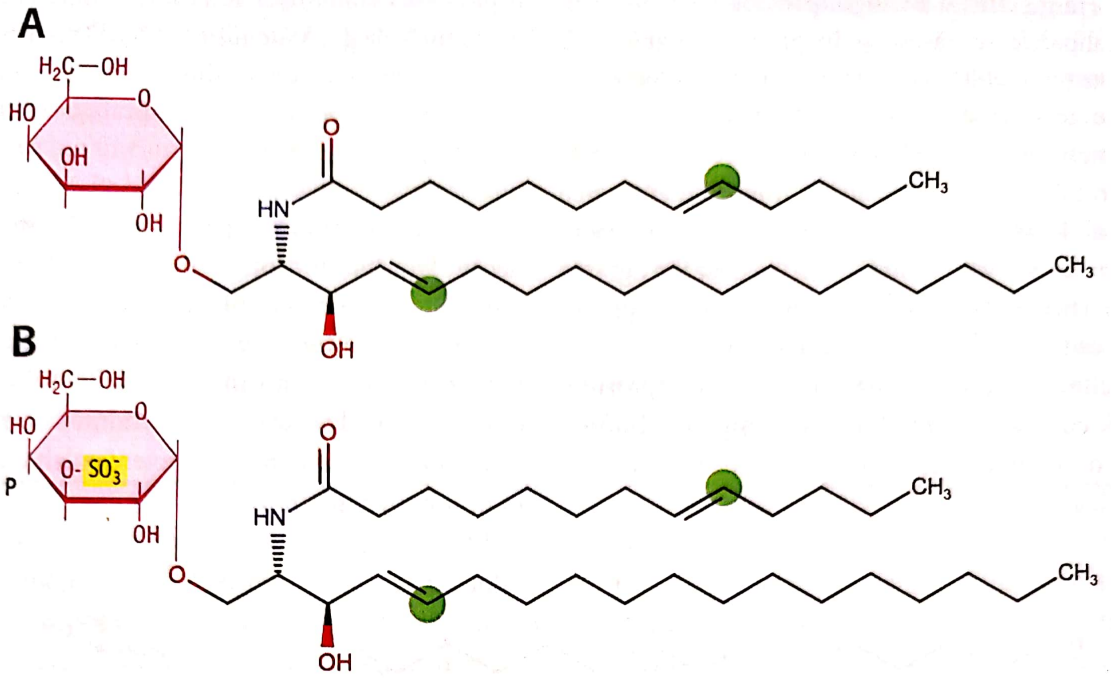


Figura 7.23. *Cerebrozidele sunt glicosfingolipide care are conțin un rest de galactozăîn structuralor (A) iar sulfatidele sunt esteri cu acidul sulfuric ai galactocerebrozidelor(B).*

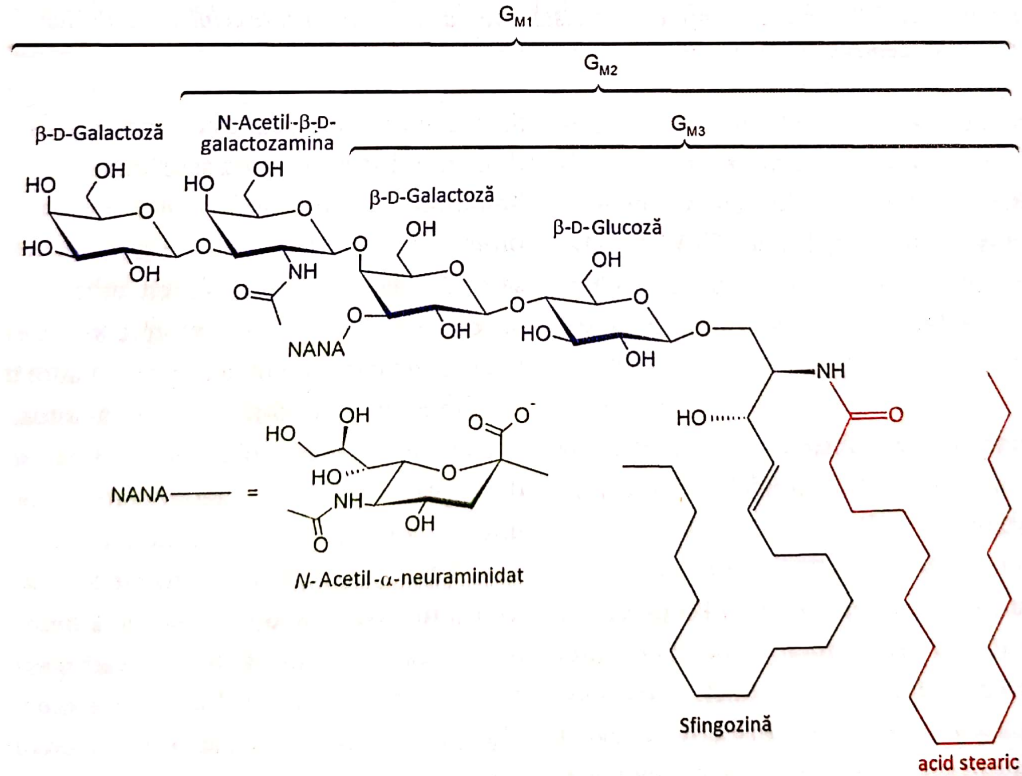


Figura 7.24. *Gangliozidele sunt ceramide care conțin 2 sau mai multe resturi de glucide în structura lor, predominant galactoză, glucoză sau NacGal precum și acid sialic (NANA). În figura sunt arătate structurile unor gangliozide comune, GM1, GM2 și GM3.*

Scanned with OKEN Scanner

Importanța clinică a sfingolipidelor

Sfingolipidele se găsesc și în plasma umană, care conține peste 200 de specii moleculare distincte. Dintre acestea, sfingozin-1-fosfat (S1P) (Fig. 7.25) are funcția de mesager in semnalizarea celulara și este implicat în migrarea celulelor imune, menținerea tonusului vascular și comunicare celulară la nivelul sistemului nervos central. S1P reglează migrarea limfocitelor de la timus la organele limfoide, proces ce necesită expresia receptorului S1P1R pe limfocite. Blocarea farmacologică a receptorului S1P1R cu analogi de S1P previne migrarea limfocitelor de la nivelul nodulilor limfatici în circulația limfatică.

Antigenele de grup sanguin: A, B și O sunt reprezentate de resturile glucidice din structura glicolipidelor, prezente pe suprafața eritrocitelor (vezi Cap. GLUCIDE).

Nou-născuții prematuri prezintă un risc mare de deces datorită sindromului de *detresă respiratorie* sau bolii membranelor hialine. Aceste afecțiuni apar ca urmare a sintezei insuficiente de surfactant pulmonar. În condiții normale, surfactantul pulmonar este sintetizat de către celulele endoteliale și eliberat în spațiul alveolar pentru a preveni colabarea acestora în timpul expiratiei.

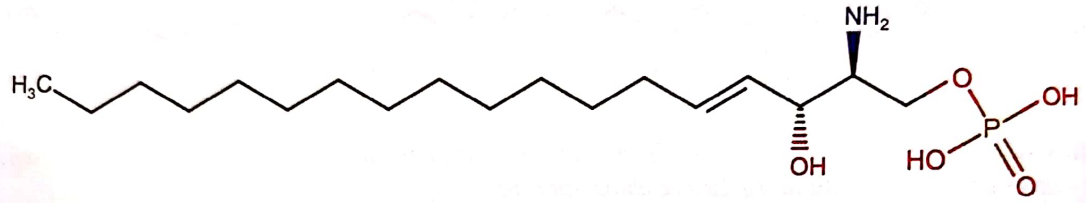


Figura 7.25. *Sfingozin-1-fosfat (S1P) are funcția de mesager în semnalizarea celulară și este implicat în migrarea celulelor imune, menținerea tonusului vascular și comunicare celulară la nivelul sistemului nervos central.*

Această informație este importantă în caracterizarea anumitor boli autoimune caracterizate prin limfocite autoreactive și a dus la dezvoltarea medicamentului imunosupresiv Fingolimod (FTY720) care suprimă expresia receptorilor pentru S1P pe limfocite autoreactive și este utilizat în tratamentul sclerozei multiple.

Erorile înnăscute de metabolism care duc la acumularea în organism a glicerofosfolipidelor sunt dintre cele mai devastatoare.

Sunt datorate unor deficite enzimatice ce stau la baza degradării acestora la nivelul membranelor celulare, în special la nivelul membranelor celulelor neuronale. Majoritatea acestor afecțiuni se însoțesc de retard psiho-motor și moarte prematură. Aceste boli vor fi prezentate la metabolismul lipidelor.

O alta caracteristică importantă din punct de vedere clinic, este aceea că sfingolipidele sunt determinanți antigenici de suprafața celulară prezenți în special pe eritrocite.

Surfactantul pulmonar este sintetizat primar din dipalmitoil-lecitina, la care se adaugă apoi alte lipide precum fosfatidilinozitol, fosfatidilglicerol și proteine. În timpul celui de al-3-lea trimestru de sarcină, plamânul fetal sintetizează sfingomielina, iar celulele endoteliale sunt apte să transforme depozitele de glicogen în acizi grași și apoi în dipalmitolecitină. Știind toate acestea, se poate aprecia maturitatea plămânului fetal și riscul de deces prin sindrom de *detresă respiratorie* prin măsurarea raportului lecitină/sfingomielină în fluidul amniotic. O valoare a acestui raport mai mică de 2 indică un risc crescut de apariție a detresei respiratorii, acest risc fiind de 80% dacă raportul este sub 1,5. Acestea reprezintă doar câteva exemple ale implicațiilor clinice ce vizează lipidele complexe, ele sunt însă mult mai multe.

Patobiochimie

Fosfolipidele și sfingolipidele în cancer și bolile neurologice

Celulele canceroase au un metabolism intens al glicerofosfocolinei ceea ce determină o creștere a nivelului de fosfocolină, un intermediar în biosinteza

Scanned with OKEN Scanner

glicerofosfocolinei şi a altor fosfolipide care conţin colină. Nivel ridicat de fosfocolină a fost observat în mai multe tipuri de cancere. Astfel, nivelul fosfocolinei pot fi folosit ca indicator al evoluţiei şi al agresivităţii carcinoamelor, dar şi un marker al răspunsului la terapie. Pe lângă rolul în biologia cancerului, glicerofosfocolina serveşte ca precursor pentru mai mulţi mesageri secundari lipidici, inclusiv acidul fosfatidic, o moleculă de semnalizare implicată în dezvoltarea rezistenţei la medicamente, care se întâlneşte des în cazul rifamicinei (sirolimus)– folosită în terapia imunosupresoare şi anticanceroasă.

Boli cauzate de acumularea de lipide

Boala Gaucher

Sfingolipidele sunt implicate în etiologia unor boli neurologice. Boala Gaucher este cauzată de acumularea de glucocerebrozide în sistemul nervos central. Este o boala genetică, autozomală si recesivă care apare cel mai des la populaţia evreiască Ashkenazi (evreii din Germania) cu o frecvenţă de 0,034. Aproximativ 6.8% din populaţia evreiască este heterozigotă pentru GD şi, pe baza acesteia, frecvenţa de naştere a copiilor cu GD este de 1:1000. Boala este comună şi în cadrul populaţiei Norrbotten, din nordul Suediei.

Studiile genetice au arătat că gena care codifică glucocerebrozidaza (GBA) este localizată pe cromozomul 1q21. Au fost înregistrate mai mult de 200 mutaţii ale acestei gene care sunt asociate cu GD. În populatia evreiască Ashkenazi predomină mutaţia punctiformă N370S. Această mutaţie reprezintă ~ 75% dintre alelele mutante de la pacienţii evrei şi ~ 30% la patienţii non-evrei. Aceasta mutaţie predispune la boala de tipul 1 şi nu presupune afectare neurologică. Mutaţia genetică în gena 84GG este destul de comună la populaţia evreiască. Mutaţia genei L444P este comună în cadrul populaţiei Norrbotten, iar la homozigoti este asociată cu variaţiile neuronopatice ale bolii. Studiile genetice recente au arătat ca mutaţiile genelor N370S şi 84GG s-au transmis de la o singură persoană din populatia evreiască Ashkenazi, prima care a avut această mutaţie - fondatorul.

Boala Gaucher a fost descrisă prima oară de către Philippe Gaucher în teza sa de doctorat în anul 1882, în care a lansat ipoteza că infiltraţia celulelor mari în splina reprezintă un neoplasm. Bazele biochimice ale bolii au fost elucidate 83 de ani mai târziu (1965) de către echipa condusă de Roscoe Brady, de la Institutul Naţional de Sănătate, USA. Bazele moleculare ale bolii au fost elucidate la sfârşitul anilor 1980, când au fost identificate mutaţiile genei care codifică glucocerebrozidaza.

Acidul fosfatidic poate fi metabolizat la acid lisofosfatidic de către fosfolipazele A1 şi A2, care hidrolizează acizii graşi din poziţia sn-1 şi sn-2.

Acidul lisofosfatidic se formează şi în plasmă, din lisoglicerofosfocolină sub actiunea autotaxinei, care are activitate de lisofosfolipază D şi clivează resturile de colină din lisoglicerofosfocolină. Exprimarea crescută a autotaxinei şi supraproducţia de acid lisofosfatidic a fost observată în multe tipuri de cancer, inclusiv cancerul ovarian.

Lichidul interstiţial de la pacienţii cu cancer ovarian conţine nivele ridicate de acid lisofosfatidic, ceea ce confirmă rolul acidului în biologia tumorii.

Prezentare clinică

Fenotipul este clasificat în 3 marii categorii în funcţie de semnele/simptomele clinice. Tipul 1, care este si cel mai comun, se prezintă ca o durere/distensie abdominală datorită hepatosplenomegaliei, dar şi unei combinaţii dintre anemie, leucocitopenie, trombocitopenie. Radiologic, se remarca afectarea scheletului, cu deformarea în formă de pahar Erlenmeyer a părţii distale a femurului (Fig. 7.26-1A). Fracturile patologice după căzături sau rănile mici are putea fi faza incipientă pentru unii pacienţi. Simptomele neurologice (în tipurile 2 şi 3), precum convulsii, demenţa, apraxia oculară, retardare mentală şi mioclonie sunt des întâlnite dar şi osteoporoza, hipertonia, apneea şi pigmentarea pielii în brun deschis. Simptomele cardiace, renale sau pulmonare sunt de obicei absente.

Scanned with OKEN Scanner

Diagnostic și teste de laborator

Sângele periferic prezintă de obicei o anizopoikilocitoză moderat până la marcantă, microcitoză moderată, hipocromie și trombocitopenie moderată.

Aspirarea de măduvă osoasă și biopsia fac posibilă observarea microscopică a celulelor măduvei osoase, care sunt amestecate cu agregate de celule Gaucher mari (Fig. 7.26-2A).

Celulele Gaucher au citoplasma abundentă, granulară sau fibroasă, de culoare albastră-gri (Fig. 7.26-3B). Imunhistochimic, celulele Gaucher se pot evidentia cu anticorpi anti-CD68, un marker inflamatoriu. Totuși, cea mai bună metodă de diagnostic actuală este analiza enzimatică pentru determinarea activității β-glucocerebrosidazei în leucocite combinată cu analiza molecular-genetică.

În boala Tay-Sachs apare o acumulare de gangliosid GM2 în inima, ficat și splină.
În creier, este caracteristică acumularea neuronilor vacuolați (Fig. 7.30C).

ea creierului și a măduvei spinării. Este o boala rară, dar cu prevalentă mare la evreii Ashkenazi de origine est-europeană. Purtatorii pot fi identificati prin teste ADN sau enzimatice, iar diagnosticul prenatal este posibil pentru familiile care au copii bolnavi.

Mecanisme moleculare în boala Tay-Sachs

Fenotipic, defectul se manifestă prin inflamarea neuronilor observată de Sachs, și a petei roșii-cireașa de pe retina descrisă de Tay. Pata roșie este datorată aspectului alb al neuronilor inflamați din retină, ce înconjoară fovea centralis (adâncitura centrală din retină și locul de maximă acuitate vizuală) din spatele ochiului, care este roșie în mod normal (Fig. 7.27A).
Gangliozidele, ca și celalalte componente celulare, sunt distruse și regenerate, urmând calea metabolică normală. Distrugerea sau catabolismul gangliozidelor are loc în lizozomi, organite bogate în enzime lizozomale și specializate în degradări enzimatice.

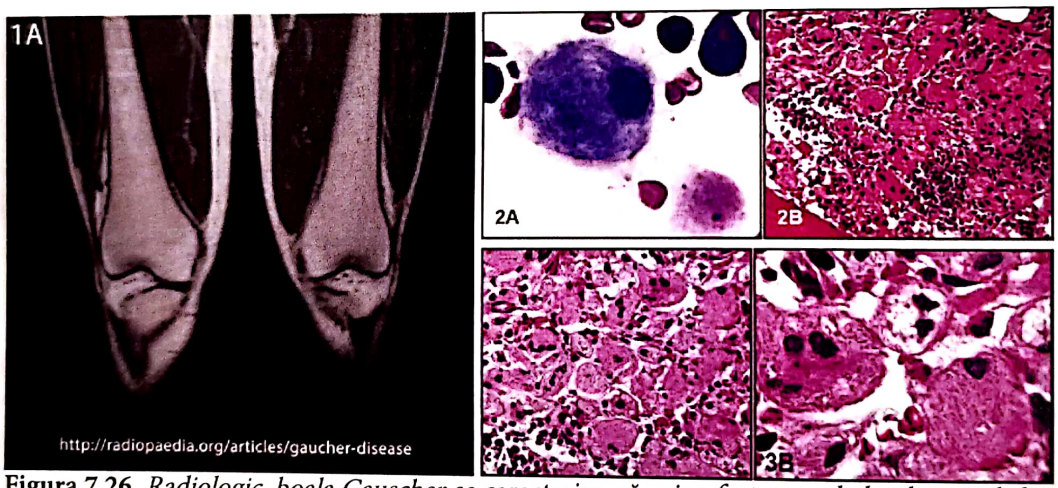


Figura 7.26. *Radiologic, boala Gauscher se caracterizează prin afectarea scheletului, cu deformarea în formă de pahar Erlenmeyer a părții distale a femurului (1A). Histologic, celulele tip Gaucher obtinute din măduva osoasă sunt mari (2A-B) cuo citoplasma abundentă, granulară sau fibroasă, de culoare albastră-gri (3A-B).*

Boala Tay-Sachs

Boala Tay-Sachs este o boală genetică gravă a sistemului nervos, care este de obicei fatală, pacientii trăind de regula doar 3-4 ani. Este cauzată de mutații în gena *HEXA*, care codifică enzima β-hexosaminidaza A sau "Hex A".
Acest defect enzimatic determină acumularea unui gangliozid, G_{M2}(Fig. 7.24), care cauzează degenerar

Astfel, hidrolaze acide elimină zaharurile secvențial până când rămâne doar ceramida. În boala Tay-Sachs, una dintre hidrolazele lizozomale, Hex A, este defectă sau lipseste complet, asa că procesele degradative sunt blocate înainte de finalizare. Are loc astfel o acumulare progresivă de gangliozid G_{M2}, însoțită de inflamație și balonarea neuronilor afectați (Fig. 7.27B).

Scanned with OKEN Scanner

Istoria și descrierea bolii

În 1881 Warren Tay, un oftalmolog britanic, a observat o pată rosie, de culoarea ciresei, "cherry red spot" pe retina unui copil de 1 an, care suferea de retardare mentală și fizică (Fig. 7.27). Mai târziu, în 1896, Bernard Sachs, un neurolog american, a observat, la autopsie, inflamarea severă a neuronilor a unor copii bolnavi. De asemenea, el a observat că această boală apare mai des în cadrul familiilor de origine evreiască. Ambii medici descriau aceeași boală, dar abia în anii 1930 s-a descoperit că ceea ce determină formarea petei roșii de pe retină și inflamarea neuronilor este un lipid gangliozidic și că boala este cauzată de un defect metabolic genetic înnăscut "inborn error of metabolism". Termenul de "gangliozid" a fost introdus datorită abundenței mari a glicolipidelor în celulele ganglionare normale. În anii 1960, structura gangliozidei responsabile de boala Tay-Sachs a fost identificată și i s-a dat numele " gangliozida GM2 ".

Nou-născuții cu boala Tay-Sachs arată normal la naștere. La vârsta de 6 luni, părinții observă lipsa de energie a copilului lor și că răspunde mai greu la stimuli. Copilul bolnav începe să regreseze și devine foarte obosit, nu poate controla mișcările capului și nu poate să se târască sau să stea în șezut. Boala progresează rapid în primii ani de viață, cu convulsii și paralizie avansată. Apoi copilul intră într-o stare vegetativă avansată. Moartea este de cele mai multe ori cauzată de pneumonie, deoarece copilul este slăbit. Unele forme de boală Tay-Sachs au o intensitate moderată, cu declanșarea bolii mai târziu în timpul copilăriei sau când persoana este adultă. Acum se știe că aceste forme ale bolii sunt determinate de mutații mai putin severe. în gena HEXA.

Fenotipic, defectul se manifestă prin inflamarea neuronilor observată de Sachs, și a petei roșii-cireașa de pe retină descrisă de Tay.

Pata roșie este datorată aspectului alb al neuronilor inflamați din retină, ce înconjoara *fovea centralis* (adâncitura centrală din retină și locul de maximă acuitate vizuală) din spatele ochiului, care este roșie în mod normal (Fig. 7.27A).

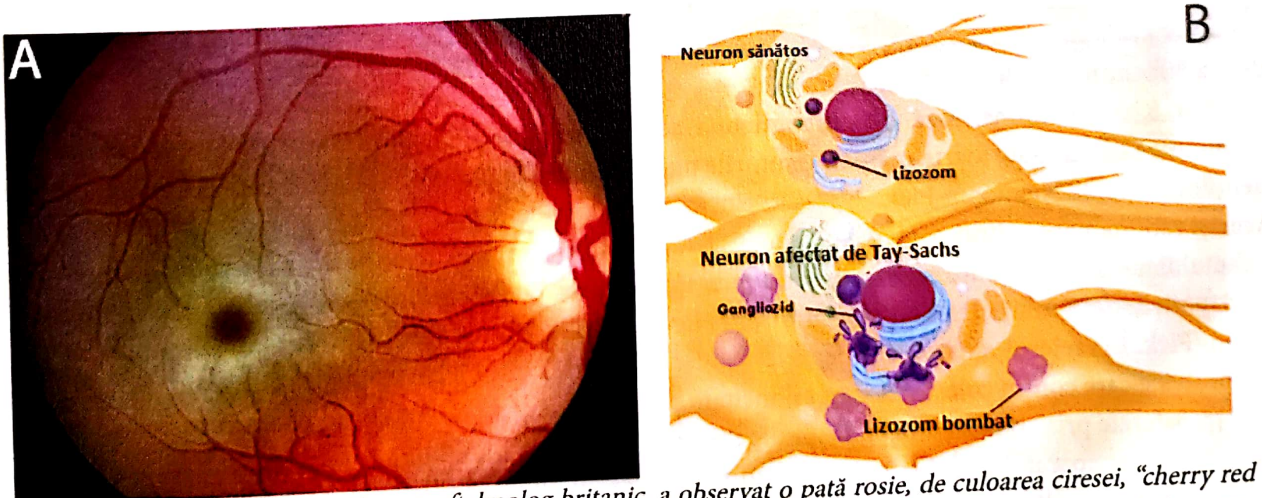


Figura 7.27. *În 1881 Warren Tay, un oftalmolog britanic, a observat o pată rosie, de culoarea ciresei, "cherry red spot"(A) pe retina unui copil de 1 an, care suferea de retardare mentală și fizică. Defectul genetic determină acumularea gangliozidului GM2 care la nivel celular se manifestă prin lizozomi măriți și acumulare de gangliozid GM2 la nivelul aparatului Golgi (B).*

Scanned with OKEN Scanner

Hex A este formată din 2 subunități polipeptidice, α și β. O altă formă a enzimei, Hex B, este formată din 2 subunități β. În boala Tay-Sachs apar mutații în subunitatea α, în timp ce Hex B nu e afectată. Unii pacienți au o boală asemănătoare cu Tay-Sachs, în care ambele gene, Hex A și Hex B, sunt afectate. Această boală, numită boala Sandhoff, a fost descrisă pentru prima oară de către Konrad Sandhoff în anii 1960 și se datorează mutațiilor în gena care codifică subunitatea β. Mai este implicată și o altă proteină, numită activatorul GM2 care este esențială pentru degradarea gangliozidei GM2. Proteina activatoare GM2 formeaza un complex cu gangliozidul GM2, transformându-l dintr-o formă hidrofobă, asemănătoare membranei, într-una hidrofilă, astfel încât să fie ușor hidrolizat de către Hex A în lizozomi. Mutații în gena activatoare a GM2, numită GM2A, pot provoca o boala Tay-Sachs-like, care este însă extrem de rară. În concluzie, mutații în oricare dintre aceste 3 gene, HEXA, HEXB sau GM2A, pot cauza boala Tay-Sachs iar pacienții care au oricare din aceste boli sunt considerați ca având gangliosidoza GM2. Boala Tay-Sachs reprezintă cea mai comună formă a bolii, cauzată de mutații în gena HEXA.

Diagnosticul prenatal

O treime din populatia Ashkenazi este purtătoare uneia dintre mutațiile Tay-Sachs, frecvența mutației fiind de 10 ori mai mare decât la populația non-evreiască. Până în 1970 s-a estimat că 1 din 4.000 nașteri din populația evreiescă Ashkenazi era un copil cu boala Tay-Sachs. Din acest motiv, imediat după identificarea defectului enzimatic, s-au dezvoltat teste pentru identificarea purtătorilor și pentru testarea prenatală. Aceasta măsură a dus la scăderea incidenței bolii Tay-Sachs la o treime din nivelul anterior. Programul de testare a fost un succes deoarece a fost organizat de către comunitatea evreiască, cu participarea geneticienilor care au realizat testele. În timpul anilor 1970 și 1980, testul a măsurat nivelul activității Hex A în ser și celule albe. Pentru identificarea mutațiilor la Ashkenazi, testarea ADN s-a dovedit utilă. Mulți geneticieni preferă să realizeze ambele tipuri de teste, în special pentru non-evrei. Deși testul ADN este util prin simplitatea și rata scăzută de erori, totuși pentru siguranța diagnosticului se recomandă în plus și testul enzimatic.

Boala Niemann-Pick

În 1934 Klenk demonstrează că sfingomielina se acumulează în cantitate foarte mare în țesuturile pacienților cu boală Niemann–Pick.

Același raționament aplicat pentru elucidarea defectului metabolic din boala Graucher, a condus la descoperirea defectului metabolic specific bolii Niemann–Pick. În creierul sănătos, complexele lipoproteice care conțin colesterol sunt endocitate și apoi transferate prin intermediul endosomilor și lizozomilor către aparatul Golgi și reticolul endoplasmatic. Acest flux este întrerupt în cazul patologiei Niemann-Pick unde defecte în genele care codifică proteinele NPC1 sau NPC2 inhibă transportul colesterolului esterificat către aparatul Golgi și reticolul endoplasmatic determinând acumularea colesterolului în endosomi și lizozomi (Fig. 7.28).

Boala Gaucher

Forma infantilă (tipul 2) poate duce la moarte prematură, copiii afectați de boală decedând înainte de vârsta de 5 ani. În cazul formei care predomina la adulți (tipul 1), apar variații ale manifestărilor clinice de la un pacient la altul; chiar și în cadul unei familii, cei bolnavi au simptome clinice și evoluție diferită. Unii indivizi pot fi usor afectați și pot fi diagnosticați doar prin screening sau prin evaluarea unei boli cronice, de exemplu anemia. În cazul altora, boala Gaucher poate fi progresivă. Cu ajutorul terapiei cu enzime recombinante care pot suplini funcția enzimatică deficientă sau redusă, cei mai mulți pacienți cronici pot sa spere la o viață normală, lungă.

Scanned with OKEN Scanner

Terapia de înlocuire enzimatică cu glucocerebrozidază recombinantă este cunoscută sub numele de imiglucerază (Cerezyme) care se administrează intravenos. Este principalul tratament pentru GD, care a devenit astfel prima boală de acest fel stabilizată cu succes. Astfel s-a putut stabili că nivelul plasmatic de glicozilceramide și ceramide sunt corelate cu gravitatea bolii Gaucher, dar și cu răspunsul la tratament. Hepatosplenomegalia, anemia și trombocitopenia se ameliorează de obicei în circa 6 luni.

Din păcate, acest tratament nu este eficient în cazul simptomelor neurologice, pentru că glucocerebrozidaza recombinantă nu traversează bariera sânge-creier.

BoalaTay-Sachs

Nu are tratament. O abordare promițătoare se bazează pe blocarea parțială a sintezei de gangliozid și minimalizarea acumulării de gangliozid GM2 (Fig. 7.24). O altă strategie terapeutică folosește terapia genică care are ca obiectiv furnizarea in situ a genei responsabile de sinteza enzimei deficiente Hex A în combinație cu abordarea medicamentoasă.

Istoria și descrierea bolii

Din punct de vedere clinic, NPC este o boală extrem de heterogenă și tabloul clinic poate varia foarte mult de la un pacient la altul. La pacienții adulți, primul semn de boală ar putea fi o dereglare motorie precum tremor, ataxie, sau distonie cu tulburări de vorbire, de deglutiție, vedere. Cum aceste simptome pot sa fie destul de subtile, la început, este posibil ca pacienții să nu fie conștienți de simptomatologia lor. Familia și prietenii bolnavului sunt cei care observă alterările subtile după modul în care pacientul merge/vorbește.

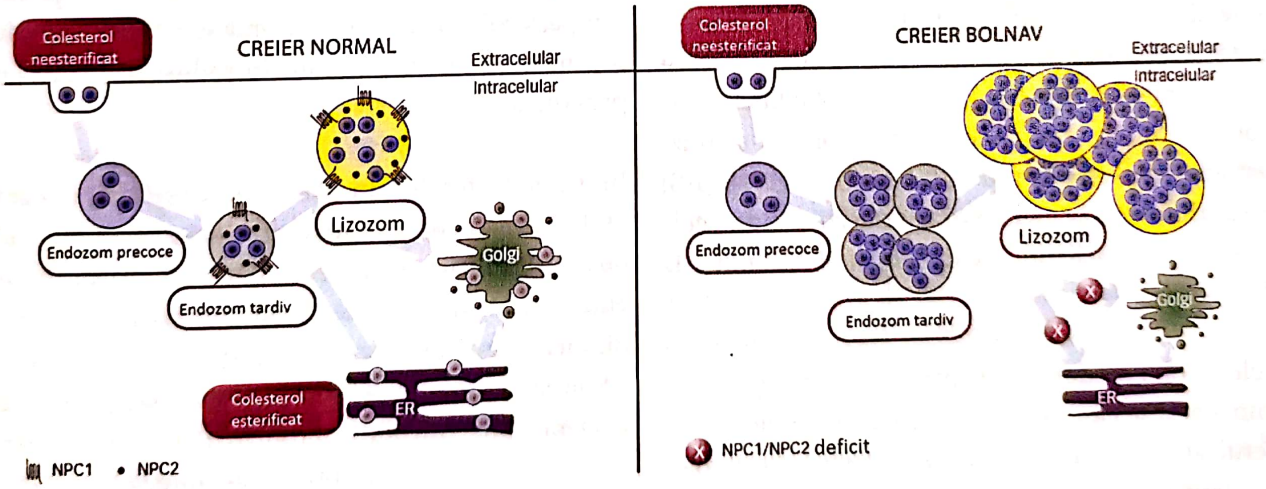


Figura 7.28. *În patologia Niemann-Pick defecte genetice în genele care codifică proteinele NPC1 sau NPC2 inhibă transportul colesterolului esterificat din endozomi și lizozomi către aparatul Golgi și reticolul endoplasmatic determinând acumularea colesterolului în endozomi și lizozomi. ER = endoplasmic reticulum.*

Scanned with OKEN Scanner

Sterolii

În categoria sterolilor intră un număr mare de compuşi ce se găsesc în natură. Aceştia sunt derivaţi ai unui nucleu de bază numit *steran*. Din categoria sterolilor unul dintre compuşii importanţi este *colesterolul*. Colesterolul este un alcool steroidic nesaturat alcătuit din 27 de atomi de carbon organizaţi în patru inele (A, B, C şi D numite „nuclee sterolice") unite prin legături de tip C-H. Inelul D are ataşat la C-17 o catenă ramificată hidrocarbonată alcătuită din opt atomi de carbon. Inelul A prezintă la atomul de C-3 o grupare hidroxil, iar inelul B conţine o dublă legătură între atomii de carbon 5 şi 6. Datorită prezenţei în structura sa a legăturilor de tip carbon-hidrogen este insolubil în apă.

Singura parte hidrofilă a colesterolului este gruparea hidroxil ataşată atomului de carbon 3 a inelului A. Astfel colesterolul este o moleculă polară şi nepolară (amfipatică).

Colesterolul poate exista liber sau sub formă esterificată. Esterificarea colesterolului la gruparea hidroxil a atomului de carbon 3 are loc în prezenţa a două enzime diferite, iar în urma acestui proces se formează esterii colesterolului care au un caracter hibrofob mai accentuat comparativ cu colesterolul liber.
Colesterolul este precursorul hormonilor steroizi (estradiol, testosterone, corticosteroizi şi gestageni), al sărurilor biliare derivate de la acizii biliari (colic, dezoxicolic, chenodezoxicolic) şi al vitaminei D (Fig. 7.29).

Colesterolul predomină în alimentele de origine animală, şi se găseşte în organism fie liber, fie e sterificat (formade stocare în celule). Colesterolul este transportat prin organism sub forma lipoproteinelor serice. În afara faptului că este precursor în sinteza unor compuşi importanţi pentru organismul uman, colesterolul îndeplineşte şi un rol structural, intrând în compoziţia membranelor celulare şi contribuind controlul permeabilităţii acestora.

Colesterolul, sterolii oxidaţi şi riscul cardiovascular

Colesterolul este unul dintre cei mai abundeţi steroli din plasmă şi se găseşte atât în formă liberă cât şi esterificat cu acil. În plasmă colesterolul este asociat cu lipoproteine, în principal lipoproteine cu densitate mică (LDL, care reprezintă 60-70% din colesterolul plasmatic) şilipoproteine cu densitate mare (HDL, care reprezintă 20-30% din colesterolul plasmatic). Nivelul său plasmatic este folosit, predominant, pentru evaluarea riscului cardiovascular a unei persoane. Un nivel ridicat de LDL-colesterol în plasmă este considerat un risc major pentru bolile ale arterei coronariene şi infarct si de aceea LDL-colesterolul reprezintă o ţintă terapeutică.

Politicile de sănătate publică actuale recomandă ca toate persoanele în vârstă de 20 ani şi peste să-şi determine o data la 5 ani profilul lipidic, în special al lipoproteinelor. Testele de sânge de rutină includ măsurarea colesterolului total, de obicei fără a se face deosebire între colestesterolul liber şi cel esterificat. Colesterol se găseşte în principal sub formă esterificată cu acili. Plasma conţine mai mult de 22 de specii moleculare diferite de esteri ai colesterolului.

Pe lângă colesterol, în plasma umană se mai găsesc campesterol şi sitosterol care nu sunt sintetizate de organismul uman, dar sunt introduşi în organism prin dietă.

În general, sterolii din plante sunt prezenti în cantităţi mici, iar colesterolul reprezintă 99% din totalul de colesterol circulant. În sitosterolemie, o afecţiune autozomală, nivelul de steroli din sânge proveniti din plante este foarte crescut. La pacienţii cu această boală, şi nivelul de colesterol este crescut, astfel încât pacienţii pot dezvolta xantomatoză şi ateroscleroză prematură. Aceşti pacienţi nu răspund la tratametul cu statine, dar răspund bine la tratamentul cu rasini schimbatoare de ioni bazate pe acizi biliari. De aceeea o analiză completă a sterolilor plasmatici este necesară pentru a face diagnostic diferenţial şi a pentru a putea alege tratamentul potrivit.

Latosterolul este prezent în plasmă şi poate avea valoare diagnostică, indicând nivelul sintezei de colesterol din organism. Modul în care colesterolul se sintetizează şi se diferenţiază din sursele alimentare este de interes clinic, în special în evaluarea prognostica a terapiei cu statinela pacienţii cu

Scanned with OKEN Scanner

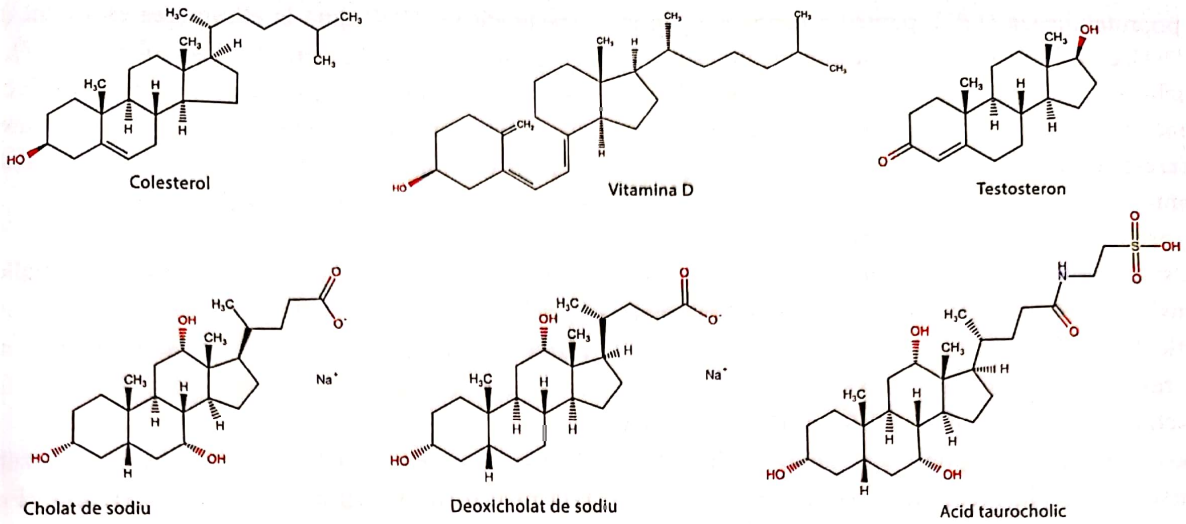


Figura 7.29. *Colesterolul este precursorul hormonilor steroizi (estradiol, testosterone, corticosteroizi și gestageni), al sărurilor biliare derivate de la acizii biliari (colic, dezoxicolic, chenodezoxicolic) și al vitaminei D.*

hipercolesterolemie. Plasma conține și urme de *25-hidroxicolesterol*, care e secretat de macrofage ca răspuns la activarea receptorilor toll-like.
Expunerea limfocitelor B la acest oxisterol derivat din macrofage, suprimă producția de imunoglobulină A, facilitând astfel reglarea negativă a răspunsului imun adaptativ de către sistemul imun înnăscut.

Patobiochimie

Aportul, sinteza și utilizarea colesterolului trebuie să fie riguros controlată pentru a preveni acumularea și depozitarea lui în organism. Un aspect clinic important este legat de acumularea colesterolului și a fracțiunilor lipoproteice bogate în colesterol în peretele arterelor mari, cu apariția aterosclerozei și a bolilor cardiovasculare. Este de asemenea, un indicator util în diagnosticul hiperlipoproteinemiilor și a altor afecțiuni precum diabetul zaharat, sindromul nefrotic, litiaza biliară etc.

Rolul lipidelor plasmatice în sindromul metabolic

Trigliceridele alături de colesterol, reprezintă un indicator util în ceea ce privește riscul de apariție a bolilor cardiovasculare (ateroscleroza, infarct miocardic, accident vascular cerebral) și a altor afecțiuni precum pancreatita. Un nivel crescut al trigliceridelor (hipertrigliceridemie) se asociază frecvent cu sindromul metabolic caracterizat în principal prin hipeinsulinemie, dislipidemie și obezitate.
Glicerolipidele sunt o componentă majoritară din totalul lipidic și se divid în triacilgriceroli (TAG), diacilgliceroli (DAG) și glicerolipide legate prin grupări eterice. Concentrația plasmatică din categoria TAG, a chilomicronilor și VLDL ("very low density lipoproteins"), este dependentă de consumul de alimente.

În plus, factorii secundari, precum determinanții genetici, diabet necontrolat, obezitatea și stilul de viață sedentar, pot cauza hipertrigliceridemie o formă prevalentă de dislipidemie care este frecvent asociată cu boală artero-coronariană prematură (Fig. 7.30).

Un surplus caloric poate duce de asemenea duce la creșterea țesutului adipos și, în final, la obezitate și complicații metabolice caracterizate prin rezistență la insulină, diabet și apariția steatozei hepatice și a inflamației.

Nivelele anormale de lipide și lipoproteine în plasmă reprezintă factori de risc pentru bolile cardiovasculare și metabolice și sunt ținte de tratament. Celulele au nevoie de colesterol și *TAG*. Aceste lipide circulă în sânge ca particule lipoproteice, inclusiv chilomicroni, VLDL, LDL, HDL. În chilomicronii circulanți și VLDL, TAG sunt supuși hidrolizei de către

Scanned with OKEN Scanner

lipoproteinlipaza (*LPL*), pentru a forma acizi grași (*FFA*), care folosesc ca sursă de energie în țesuturi, inclusiv în muschi. FFAs în exces se stochează în adipocite sub formă de TAG. Un surplus caloric duce la creșterea țesutului adipos și, în final, la obezitate și complicații metabolice caracterizate prin rezistență la insulină și diabet. TAG-urile depozitate în adipocite sunt supuse lipolizei sub actiunea lipazei hormon sensibilă (HSL), ducând la un nivel echilibrat energetic de *FFA* în plasmă.

În rezistența la insulină, adipocitele sunt lizate și reacționează la enzimele ce determină mobilizarea grasimilor, dar nu răspund la acțiunea antilipolitică a insulinei. În plus, rezinstența la insulină scade activitatea LPL adipocitare; totuși adipocitele persoanelor obeze utilizează mecanisme compensatorii care cresc capacitatea de transport și asimilare pentru FFA.

aceste efecte. *HDL* ajută la eliminarea excesului de *FC* prin transportul invers al colesterolului (RCT), cu formarea colesterol esterificat (*CE*) de către lecitin colesterol aciltransferaza (*LCAT*), și utilizarea hepatică a CE. Nivele ridicate de HDL sunt corelate cu un risc cardiovascular scăzut (Fig. 8.30).

Se poate concluziona că un nivel ridicat al trigliceridelor este datorat pe de o parte factorilor de risc legate de stilul de viață, iar pe de altă parte este datorat factorilor genetici (hiperliperproteinemiile familiale).

Relația între principalele clase de lipide este prezentată prin formule reprezentative fiecărei clase (Fig. 7.31).

Diagrama începe cu un precursor format din 2 atomi de carbon, acetil coenzima A (CoA) care este necesar biosintezei acizilor grași.

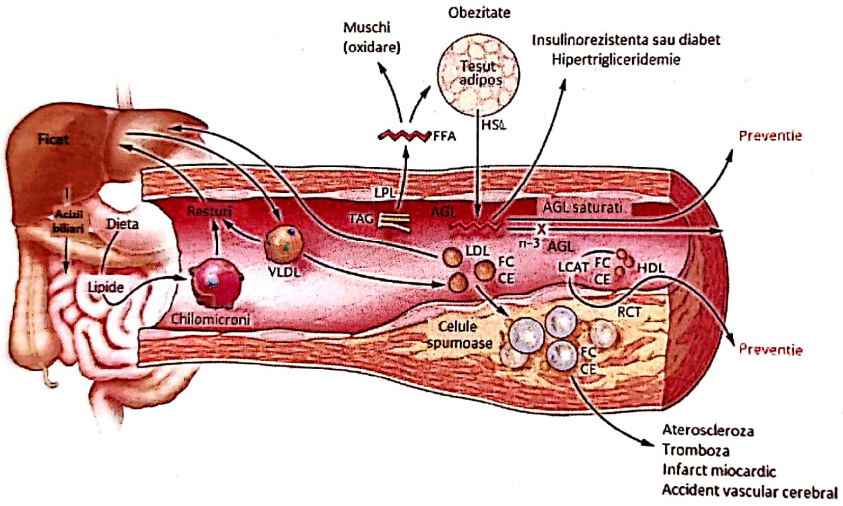


Figura 7.30. *Nivelele anormale de lipide și lipoproteine în plasmă reprezintă factori de risc pentru bolile cardiovasculare și metabolice. Lipidele circulă în sânge ca particule lipoproteice, inclusiv chilomicroni, VLDL, LDL, HDL.modificat după N Engl J Med368:2004-13.2013*

Pe lângă lipoliza crescută, acest proces determină creșteri anormale ale nivelului plasmatic de FFA, determinând astfel înmagazinarea lor ca *TAG* și apariția steatozei hepatice și a inflamației. Unele TAG sunt exportate ca VLDL, ducând la hipertrigliceridemie. *Acidul trans-palmitoleic poate contracara câteva dintre aceste efecte și poate stimula sensibilitatea la insulină la nivel hepatic și muscular.*

În general, *FFA* saturați favorizează bolile cardiace și inflamația sistemică, în timp ce *n–3 FFA* previn

Acizii grași reprezintă o parte a lipidelor complexe denumite glicerolipide, glicerofosfolipide, sfingolipide și lipide care conțin o structură sterolică. O parte din acizii grași este convertită în eicosanoizi. A doua cale de biosinteză este formarea din acetil-CoA a precursorului izoprenului format din 5 atomi de carbon izopentenil pirofosfat din care se formează prenol și lipide cu structură sterolică (n-indică numărul unităților izoprenice).

Scanned with OKEN Scanner

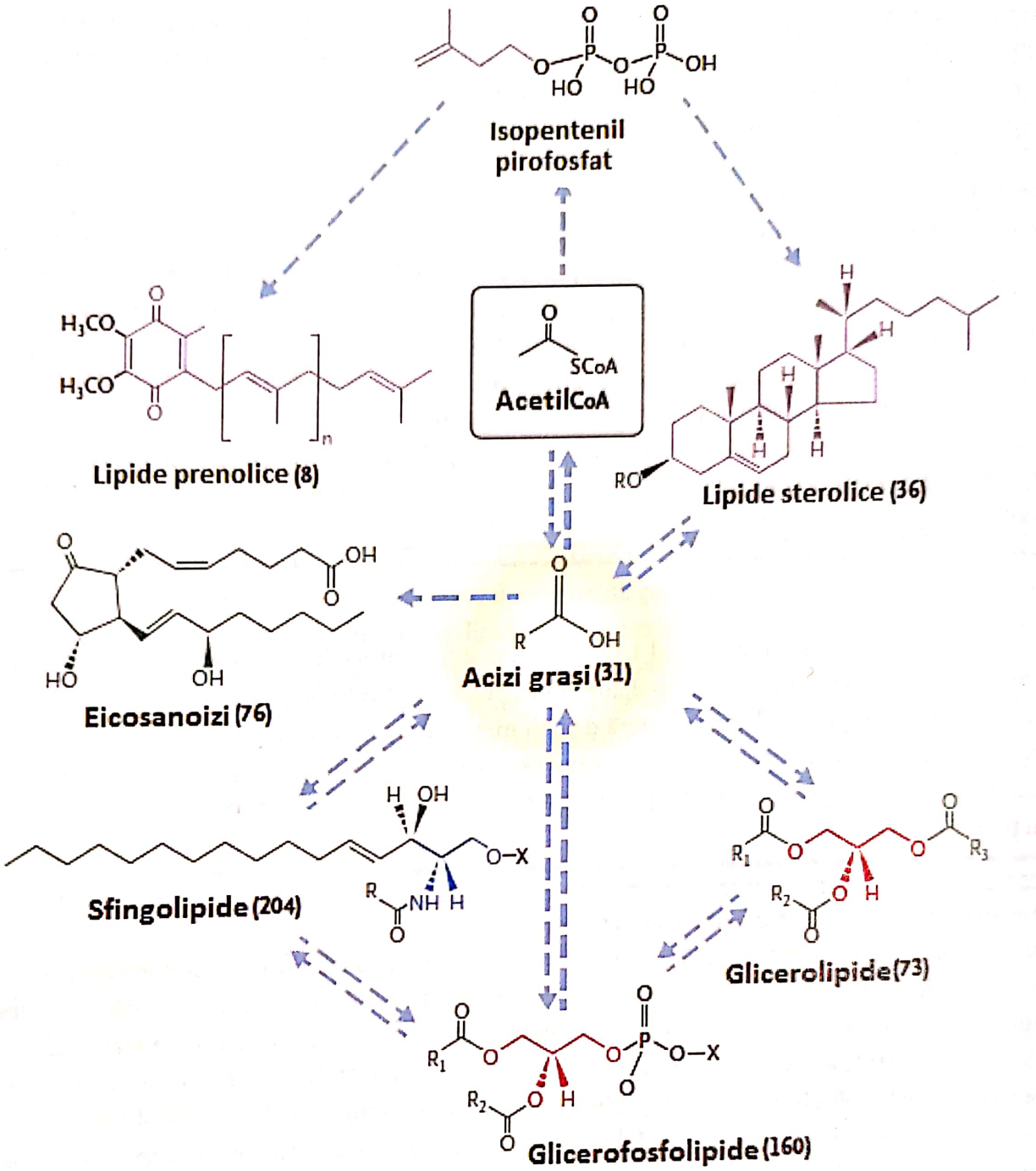


Figura 7.31 *Diversitatea lipidelor din plasma umană. Relațiile dintre diferitele categorii lipidice la mamifere sunt prezentate prin moleculele reprezentative. Unrol central al are acetil coenzima A (CoA), necesara biosintezei acizilor grași. Acizii grași, la rândul lor, devin parte din lipidele complexe, și anume glicerolipide, glicerofosfolipide, sfingolipide, lipide sterolice. Unii acizi grași se transformă în eicosanoizi. Prin a 2a cale biosintetică majoră, din acetil CoA se formează isopentenil pirofosfat, care este precursor pentru lipidele prenolice și sterolice. Derivații acizilor grași sunt prezentați în culoarea verde, iar derivații-izoprenului sunt prezentați în culoarea violet, glicerolul în roșu, iar derivații ce conțin serină în albastru. Săgețile indică transformarea în principalele clase de lipide, pornind de la acetil-CoA. Valorile din paranteze indică numărul distinct de analiți din fiecare categorie care au fost cuantificați prin spectrometrie de masă. modificat după N Engl J Med, 365:1812-23, 2011.*

Lipidele sunt remarcabile prin diversitarea structurala care sugerează funcții diverse în organism(Fig 7.31).

Lipidele din plasma sunt solubilizate și dispersate sub formă de asociere cu anumite grupuri de proteinele. Cei mai mulți dintre acizii grași liberi sunt asociati în plasma cu albumină, în timp ce transportul și distribuția lipidelor mai complexe se face cu ajutorul lipoproteinelor.

Diversitatea structurală a proteinelor este egalată de variația funcțiilor lor fiziologice. Multitudinea de variații interindividuale a speciilor moleculare lipidice poate fi un indicator al varietății patologiilor specific umane.

Scanned with OKEN Scanner

Studii clinice în SUA au arătat ca prevalența hipertrigliceridemiei la adulții cu vârsta de peste 20 ani este de 36% la bărbați și 27% la femei. În urma analizei detailate a 14 perechi de frați gemeni monozigoți tineri, care nu erau obezi, și a unui eșantion de 100 adulți sănătoși, s-a observat că TAG 50:2, 52:2, 52:3 și 52:4 erau cele mai abundente specii glicerolipidice. TAG sunt definite ca raportul dintre numărul de atomi de carbon și numărul de legaturi duble. Când s-a extins studiul incluzând vârsta și istoricul genetic al pacientului, s-a observat că majoritatea speciilor moleculare TAG, inclusiv 56:4, corelează pozitiv cu indicele de masa corporală (BMI) și cantitatea grăsimii subcutanate si pot servi ca biomarkeri pentru detectarea precoce a obezității, mai ales la copii. În mod similar, profilarea plasmei a 16 adulți fără diabet, dar care prezentau sensibilitate crescută la insulină, a arătat că speciile TAG care conțin acizi grași saturați sau mono-nesaturați au o legătură cu rezistența la insulină, în timp ce TAG care conțin acizi grași esențiali nu au legatură cu rezistența la insulină sau cu circumferința taliei. Studiul cu gemenii monozigoți a inclus și o evaluare a fosfolipidelor și a arătat faptul că obezitatea este asociată cu creșterea de lisoglicerofosfocolină și creșterea altor glicerofosfolipide. În plus, s-a observat o corelație negativă între acidul docosahexaenoic ce conține glicerofosfocolină, și grăsimea subcutanată și intraabdominală (Quehenberger& Dennis, 2011).

Lipidomul uman

Evaluarea nivelului colesterolului și al trigliceridelor este o procedură de rutină, iar medicii prescriu des medicamente care scad nivelul lipidelor la pacienții care sunt diagnosticați cu dislipidemie. Totuși creșterea numărului pacienților care suferă de boli metabolice, inclusiv diabet zaharat de tipul 2 și obezitate, care determină risc crescut de boli cardiovasculare, a dus la necesitatea realizării unei analize mai amănunțite a lipidelor plasmatice, atât pentru diagnostic, cât și pentru monitorizarea eficienței tratamentului prescris.

Diversitatea lipidelor din plasma umană

Având în vedere importanța lipidelor în procesele biologice și patofiziologice, cunoașterea amănunțită a compoziției și concentrației metaboliților lipidelor din plasma ar putea să ajute la stabilirea unui diagnostic. Pentru aceasta, Institutul Național pentru Diabet și Boli Digestive și Renale (NIDDK) în colaborare cu Institutul Național pentru Standarde și Tehnologie (NIST)(ambele, SUA) au elaborat un material standard de referință pentru plasmă (SRM 1950) în scopul analizării metaboliților.

De-a lungul timpului, profilierea lipidelor a fost dificil de realizat din cauza proprietăților fizice diferite ale metaboliților lipidelor care necesită o multitudine de sisteme de purificare în combinație cu proceduri analitice complexe. Evoluția tehnicilor de investigație a lipidelor a dus la dezvoltarea unor platforme analitice noi, în special în ceea ce privește spectrometria de masă, care au permis analiza în detaliu a multor lipide. O metodă de analiză a lipidelor, de înaltă rezoluție, se bazează pe cuplarea dintre cromatografia de gaze sau de lichide cu spectrometrul de masa și a fost dezvoltată pentru investigarea lipidelor la mamifere, care respectă standardul NIDDK-NIST SRM, facilitând prima analiză amănunțită a lipidelor din plasma umană. Analiza realizată de consorțiul LIPID MAPS a evidențiat complexitatea lipidelor din plasma umană. Au fost cuantificate aprox 600 specii moleculare diferite, din toate cele 6 categorii importante de lipide de la mamifere: acizi grași, glicerolipide, sfingolipide, glicerofosfolipide, lipide sterolice, lipide prenolice. Diversitatea structurală este mai pronunțată în cazul sfingolipidelor și al glicerofosfolipidelor, din care au fost identificate 204, respectiv 160 de specii moleculare. Definirea speciilor de glicerolipide este mai dificilă din cauza amestecurilor complexe cu aceeași masă moleculară, ceea ce face dificilă definirea individuală a speciilor moleculare. Heterogenitatea lipidelor compexe în cadrul aceleiași categorii este determinată de variația conținutului de acizi grași și de acizii grași care intră în compoziția lipidelor complexe care au diferite surse: consumul de alimente, eliberarea de la nivelul țesutul adipos și biosinteză.

Scanned with OKEN Scanner

De exemplu, polimorfismul unei singure nucleotide din gena care codifică prostaglandin E sintetaza 2, a fost corelat, în cadrul mai multor studii, cu creşterea nivelelor plasmatice de prostaglandină E2, în special la femei cu diabet de tip 2. În plus, numărul de gene umane şi enzimele/proteinele pe care aceste gene le codifică, determină o subestimare a numărului de metaboliţi lipidici, deoarece o singură enzimă poate cataliza sinteza a sute de specii lipidice diferite. Aceşti factori, împreună cu gama largă de surse de lipide vegetale, animale şi din regnul marin administrate prin dietă, dar şi contribuţia florei intestinale, sporesc enorm diversitatea lipidomului uman.

Căile de semnalizare lipidică sunt complexe.

În anii următori, înţelegerea reţelelor lipidomice şi decodarea căilor de reglare vor fi obiectivele principale. Modularea metabolismului lipidic sistemic şi intracelular reprezintă un potenţial terapeutic foarte mare. Recentul avans tehnologic a permis dezvoltarea de instrumente necesare pentru profilarea lipidelor în scopul descoperirii de biomarkeri, ceea ce a dus la obţinerea unor rezultate promiţătoare. O parte importantă din lipidomul uman este acum cunoscută şi există metode care permit cuantificarea precisă a unor specii moleculare lipidice individuale. Spre deosebire de genom şi transcriptom, care pot fi analizate prin tehnici automatizate, pentru analiza lipidelor este nevoie de tehnici analitice specifice, din cauza proprietăţilor lor structurale şi fizice. Următorul pas este să se realizeze aplicarea medicală a descoperirilor laboratoarelor care studiază lipidomul şi introducerea acestor tehnici în laboratoarele clinice. Pentru aceasta este nevoie de standardizarea preparării probelor, popularizarea procedurilor analitice şi creerea unei baze de date pentru metaboliţi. Folosirea studiului lipidomului ca metodă diagnostică se va dezvolta enorm în anii următori pe măsură ce medicina va evolua spre un tratament personalizat.

Perspectivele clinice şi monitorizare terapeutică a lipidelor plasmatice

Un număr neasteptat de mare de metaboliţi lipidici din plasma umană reprezintă baza pentru descoperirea biomarkerilor pentru boli asociate cu sindrom metabolic şi pentru monitorizarea eficienţei tratamentelor persoanelor cu sindrom metabolic. Monitorizarea anumitor steroli, esteri ai colesterolului şi al speciilor moleculare de TAG pot furniza informaţii diagnostice importante. În plus, o metaanaliză a mai multor studii genomice care au implicat mai mult de 100.000 persoane, au permis identificarea a 95 de asociaţii genetice cu resturi lipidice din plasmă care afectează nivelul de lipide sangvin, şi care au o legătură directă cu bolile cardiovasculare. Combinarea variantelor genetice contribuie la fenotipuri lipidice extreme, subliniind natura multifactorială a sindromului metabolic şi a bolilor cardiovasculare, dar şi necesitatea unei analize amănunţite a metaboliţilor lipidici din plasmă.

Scanned with OKEN Scanner

Lipoproteine

Pentru a putea fi transportate prin mediul apos al or-ganismului, lipidele trebuie legate de alţi compuşi hi-drosolubili precum proteinele sau fosfolipidele. Astfel împachetate, lipidele se absorb la nivelul intestinului cu ajutorul sărurilor biliare formând micelii. Lipoproteinele sunt particule din plasmă care trans-portă lipide, inclusiv colesterol.Sunt particule sferice cu nucleu hidrofob format din trigliceride şi colesterol esterificat, la exterior prezentând o com-ponentă proteică (apolipoproteine)(Fig. 7.32). Ex-emple de apolipoproteine sunt: apoB (B48 şi B100), apo AI , apo CII, apoE.

- participă la păstrarea compoziţiei lipidice a membranelor;
- reglează procese metabolice celulare.

Lipoproteinele pot fi separate prin electroforeză şi ultracentrifugare (Fig. 7.33). Astfel, în funcţie de densitate şi mobilitate electroforetică, lipoproteinele se clasifică în:

- chilomicroni – care nu migrează în cîmp electroforetic;
- lipoproteine cu densitate foarte mică (VLDL – very low density lipoproteins);
- lipoproteine cu densitate mică (LDL – low density lipoproteins);

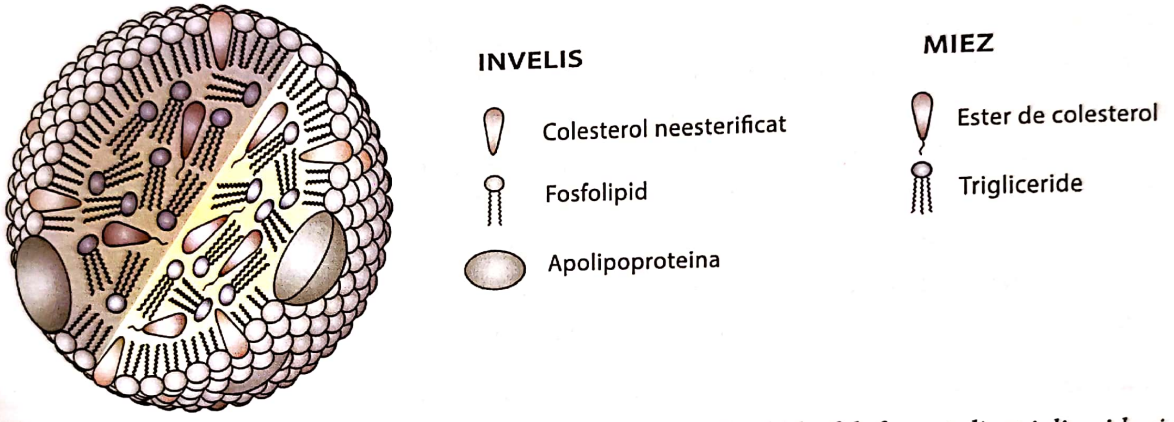


Figura 7.32. *Lipoproteinele plasmatice sunt formate dintr-un nucleu hidrofob format din trigliceride şi colesterol esterificat, la exterior prezentând o componentă proteică (apolipoproteine).*

Pe lângă functia de transport a trigliceridelor, lipoproteinele plasmatice îndeplinesc o serie de alte roluri:

- transportă colesterolul exogen şi cel sintetizat în ficat spre ţesuturile extrahepatice şi invers;
- vehiculează alţi compuşi lipidici (vitamine liposolubile);
- lipoproteine cu densitate mare (HDL – high density lipoproteins);

Chilomicronii sunt formaţi în principal din trigliceride (87%) şi lipoproteine şi servesc transportului de trigliceride provenite din hrană. Chilomicronii se formează în reticolul endoplasmatic prin asocierea fosfolipidelor cu apolipoproteine şi trigliceride nou sintetizate în urma hidrolizei

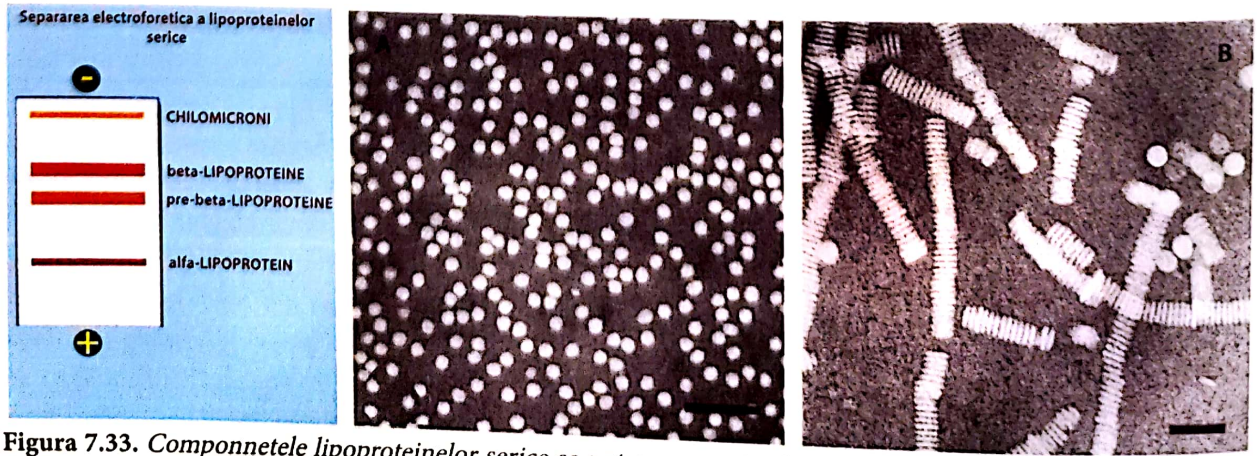


Figura 7.33. *Componnetele lipoproteinelor serice se pot separa prin electroforeză (imagine stânga). Imagini de microscopie electronică a LDL (A; mărire 136.000x) şi HDL (B; mărire 197.000x). Scara: 50 nm. modifcat după J Lip Res38, 659-669, 1997.*

Scanned with OKEN Scanner

lipidelor din hrană. Chilomicronii astfel formați urmează un proces de maturare prin co-optarea de colesterol, fosfogliceride și apolipoproteine.
În faza finală, chilomicronii sunt secretați din aparatul Golgi și eliberati în mediu extracelular prin exocitoză. În final, chilomicronii ajung prin intermediul lichidului limfatic în circulația sanguină.
La microscopul electronic lipoproteinele LDL au o structură sferică (Fig. 7.33A) în timp de lipoproteinele de tip HDL formează structuri lamelare care pot forma structuri secundare liniare (Fig. 7.33B).
Proprietățile fizice precum și compoziția principalelor lipoproteine sunt redate în Tabelul 7.2. Compoziția în acizi grași liberi a principalelor lipoproteine sunt redate în Tabelul 7.3.

Aceste componente funcționează ca ligand pentru receptorii celulari specifici, fiind astfel recunoscute și captate de către celule în vederea metabolizării lor (Fig.7.34). Clasificarea și funcțiile apolipoproteinelor umane sunt redate în T abelul 7.4. Principalele caracteristici ale apolipoproteinelor umane sunt redate în Tabelul 7.5.

Lipoproteinele plasmatice

- *VLDL(very low density lipoproteins)* sunt bogate în trigliceride (86%) și se formează în ficat ca VLDL emergent de unde sunt eliberate în circulația sanguină. Funcția de bază a VLDL este de transportul trigliceridelor sintetizate în ficat către țesuturile periferice. De aici sunt preluate de țesuturi (mușchi, țesut adipos) unde sunt degradate sub acțiunea LPL.

Tabelul 7.2. *Proprietăți fizice și concentrațiile lipidice în clasele de lipoproteine*

	CHILOMICRONI	VLDL	LDL	HDL
Densitate (g/ml)	< 0,94	0,94 -1,006	1,006- 1,063	1,063 -1,210
Diametru (Å)	6000- 2000	600	250	70-120
Total lipidic (g%)*	99	91	80	44
Trigliceroli	85	55	10	6
Esteri ai colesterolului	3	18	50	40
Colesterol	2	7	11	7
Fosfolipide	8	20	29	46

*Mare parte din restul materialului contine diferite apoproteine

Tabelul 7.3 *Compoziția în acizi grași liberi a principalelor lipoproteine*

	Trigliceride			Esteri ai colesterolului			Fosfolipide		
	VLDL	LDL	HDL	VLDL	LDL	HDL	VLDL	LDL	HDL
16:0	27	23	23	12	11	11	34	36	32
18:0	3	3	4	1	1	1	15	14	14
18:1	45	47	44	26	22	22	12	12	12
18:2	16	16	16	52	60	55	20	19	21
20:4 (n-6)	2	5	8	6	7	6	14	13	16

- Conform Skipski, V.P. in: *Lipide sangvine si lipoproteine. Cuantificare, compozitie si metabolism.* pag. 471-483 (ed. G.J. Nelson, Wiley-Interscience, New York) (1972).

Apolipoproteinele sunt componente majore ale lipoproteinelor, se mai numesc și aproteine. Clasificarea lor se face în ordine alfabetică: A,B,C până la G, la care se adaugă literele romane (I,II,III, etc.) acestea reprezentând ordinea lor de separare pe coloana cromatografică.

- *IDL (intermediate density lipoproteins).* O parte din VLDL este transformată în IDL care pătrund în hepatocite unde sunt descompuse în elementele componente sau sunt degradate sub acțiunea HTGL (triacilglicerollipaza hepatică) la LDL.

Scanned with OKEN Scanner

- *LDL (low density lipoproteins)* conţin cel mai mult colesterol (50%). Partea proteică din LDL este una din cele mai mari proteine cunoscute şi este formată din 4.527 resturi de aminoacizi) repartizaţi în 5 domenii distincte (Fig. 7.35A). În miezul particulei de LDL se găsesc lipide
- apolare, trigliceride şi esteri de colesterol. La exterior, particula de LDL este învelită în colesterol şi fosfogliceride. Funcţia majoră a particulelor de LDL este de a transporta colesterol către ficat şi ţesuturi extrahepatice şi de a regla sinteza de colesterol. Preluarea particulei de LDL este mediată de un receptor specific prezent pe suprafaţa celulor ţintă. Pentru descoperirirea acestui receptor s-a acordat Premiul Nobel în Medicină cercetătorilor americani Joseph Goldstein şi Michael Brown în anul 1985.

HDL protejează organismul de ateroscleroză deoarece preia excesul de colesterolul de pe suprafaţa celulelor şi îl transportă la ficat de unde este recirculat. Proprietăţile fizice, compoziţia chimică şi principalele apolipoproteine în cadrul principalelor clase de lipoproteine sunt indicate în Tabelul 7.6.

- ***Lipoproteinele (a)- Lp(a)***

Este formată dintr-o particulă de LDL şi apoproteina (a) [Apo (a)] legată covalent de apoB-100 printr-o punte disulfidică. Face parte dintr-o familie de lipoproteine cu potenţial aterogen şi sunt asociate cu boli cardiovasculare şi accidente cerebrale. Funcţia fiziologică a Lp(a) este încă neelucidată. Dată fiind analogia structurală cu plasminogenul este posibil să fie implicată în procesul de coagulare. Alte funcţii ipotetice includ angiogeneza, cicatrizarea sau recrutarea celulelor inflamatorii.

Tabelul 7.4 *Clasificarea şi funcţiile apolipoproteinelor umane*

Apolipoproteina	Lipoproteina	Masa moleculara (kDa)	Locul de sinteza	Functia
A I	Chilomicroni, HDL	28,5	ficat, intestin	element structural, activator al LCAT
A II	HDL	17	ficat	element structural, activator al lipzei hepatice
A IV	Chilomicroni, HDL	46	intestin	element structural, activator al LCAT
A V	VLDL, HDL	38	ficat	activator al lipzei hepatice
B 100*	VLDL, HDL	513	ficat	ligand al receptorilor ApoB100
B 48*	Chilomicroni	241	intestin	element structural
C I	Chilomicroni, VLDL, HDL	7,6	ficat	activator al LCAT
C II	Chilomicroni,VLDL, HDL	8,9	ficat	activator al LPL
C III	Chilomicroni ,VLDL, HDL	8,7	ficat	Inhibitor al LPL
D	HDL	33	ficat	activator al LCAT, element structural
E	Chilomicroni, VLDL, HDL, (LDL)	34	ficat	ligand al receptorilor Apo E
M	HDL, VLDL	13	ficat, rinichi	necunoscut

*nu se pot substitui apolipoproteinele

Legenda: LCAT este lecitin-colesterol-aciltransferaza; LPL este lipoproteinlipaza

HDL (high density lipoproteins). Este sintetizat în formă născândă în ficat şi intestin. După secreţia lui în sânge, se degradează prin interacţiunea cu chilomicronii şi VLDL, cu care realizează un schimb de lipide şi proteine

Căile de sinteză şi transport ale principalelor lipoproteine sunt arătate în Fig. 7.36.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 7.5 *Principalele caracteristici ale apolipoproteinelor umane*

Apoproteina	Greutate moleculara	Lipoproteina	Functie
Apo A1	28.100	HDL	Activarea lecitin-colesterol aciltransferazei (LCAT). Principala proteina structurala
Apo A2	17.400	HDL	Creste activitatea lipazei hepatice
Apo A4	46.000	CM	
Apo AV (5)	39.000	HDL	Creste absorbtia de triacilgliceroli
Apo B48	241.000	CM	Deriva din Apo B100- nu contine receptori pentru LDL
Apo B100	512.000	LDL,VLDL	Se leaga de receptorul LDL
Apo C1	7.600	VLDL,CM	Activeaza LCAT
Apo C2	8.900	VLDL,CM	Activeaza lipoprotein lipaza
Apo C3	8.700	VLDL,CM	Inhiba lipoprotein lipaza
Apo D	33.000	HDL	Asociata cu LCAT, leaga progesteronul
Apo E	34.000	HDL	Are 3 forme. Se leaga de receptorul LDL
Apo (a)	300.000 -800.000	LDL; Lp(a)	Se leaga prin punti bisulfidice de apo B100 si e asemanator cu plasminogenul
Apo H, J,L		HDL	Functiile nu sunt clar definite
Apo M			Transporta sfingozina-1-fosfat

Tabelul 7.6 *Proprietățile fizice, compoziția chimică și principalele apolipoproteine în cadrul principalelor clase de lipoproteine*

	Chilomicroni	VLDL	LDL	HDL
Densitate (g/ml)	0,93	0,93-1,006	1,019-1,063	1,063-1,21
Diametru (nm)	75-1.200	30-80	18-25	5-12
Triacilgliceroli (%)	86	55	6	4
Colesterol si esteri ai colesterolului	5	19	50	19
Fosfolipide (%)	7	18	22	34
apolipoproteine (%)	2	8	22	42
dintre care:				
Apo A1	+	-	-	+
Apo A II	-	-	-	+
Apo A IV	+	-	-	+
Apo A V	-	+	-	+
*Apo B 48	+ (48%)	-	-	-
*Apo B100	-	+(25%)	+(95%)	-
Apo C I	(+)	+	-	+
Apo C II	+	+	-	+
Apo C III	+	+	-	+
Apo D	-	-	-	+
Apo E	+	+	+	+
Apo M	-	+	-	+

* Apolipoproteine care nu se pot substitui in cadrul clasei de lipoproteine. Numai pentru acestea este scris,intre paranteze, ce procent reprezinta din numarul total de apolipoproteine

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

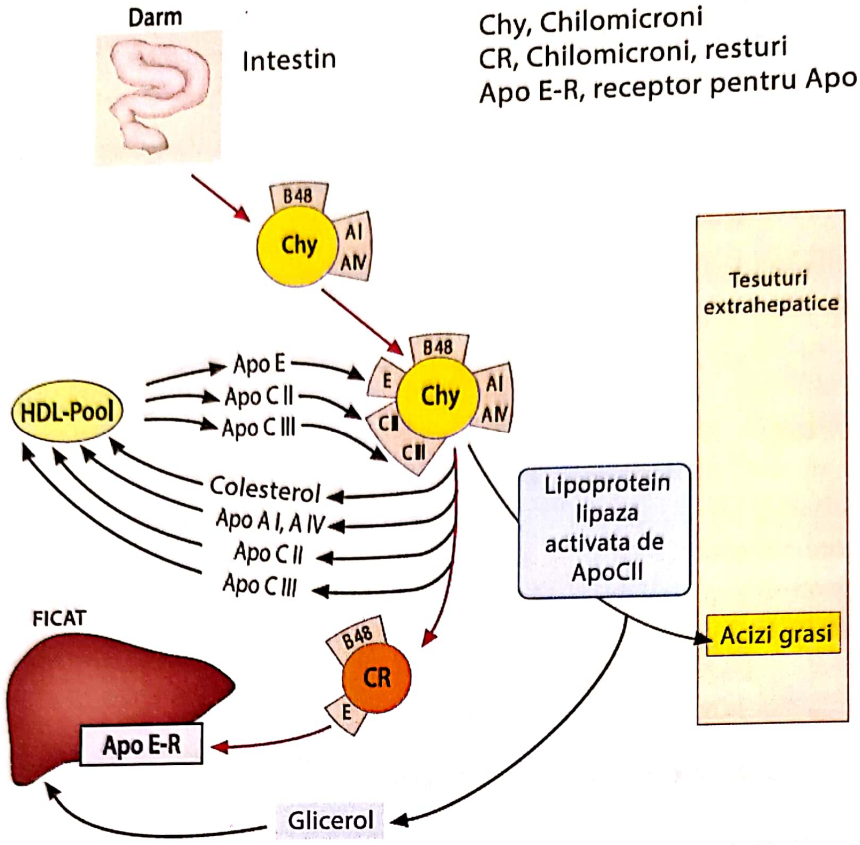


Figura 7.34. *Circuitul metabolic al chilomicronilor care se formează din lipidele din hrană în intestin.*

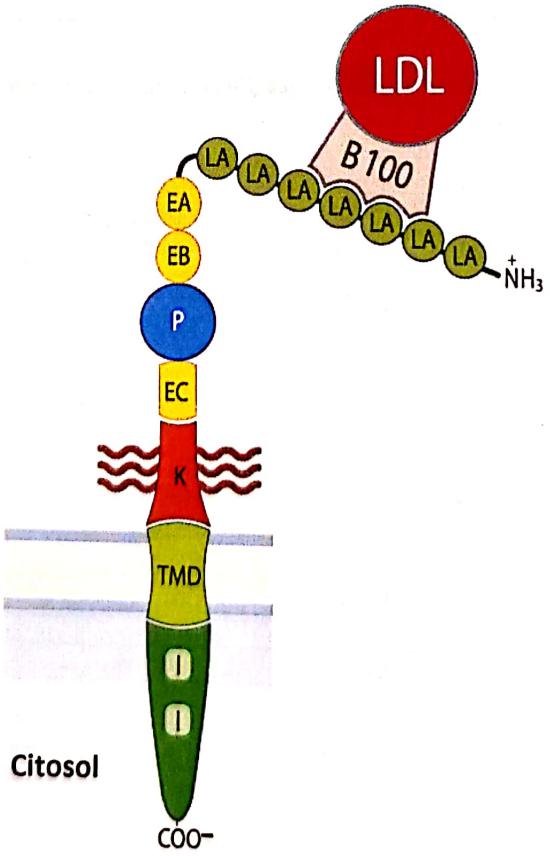
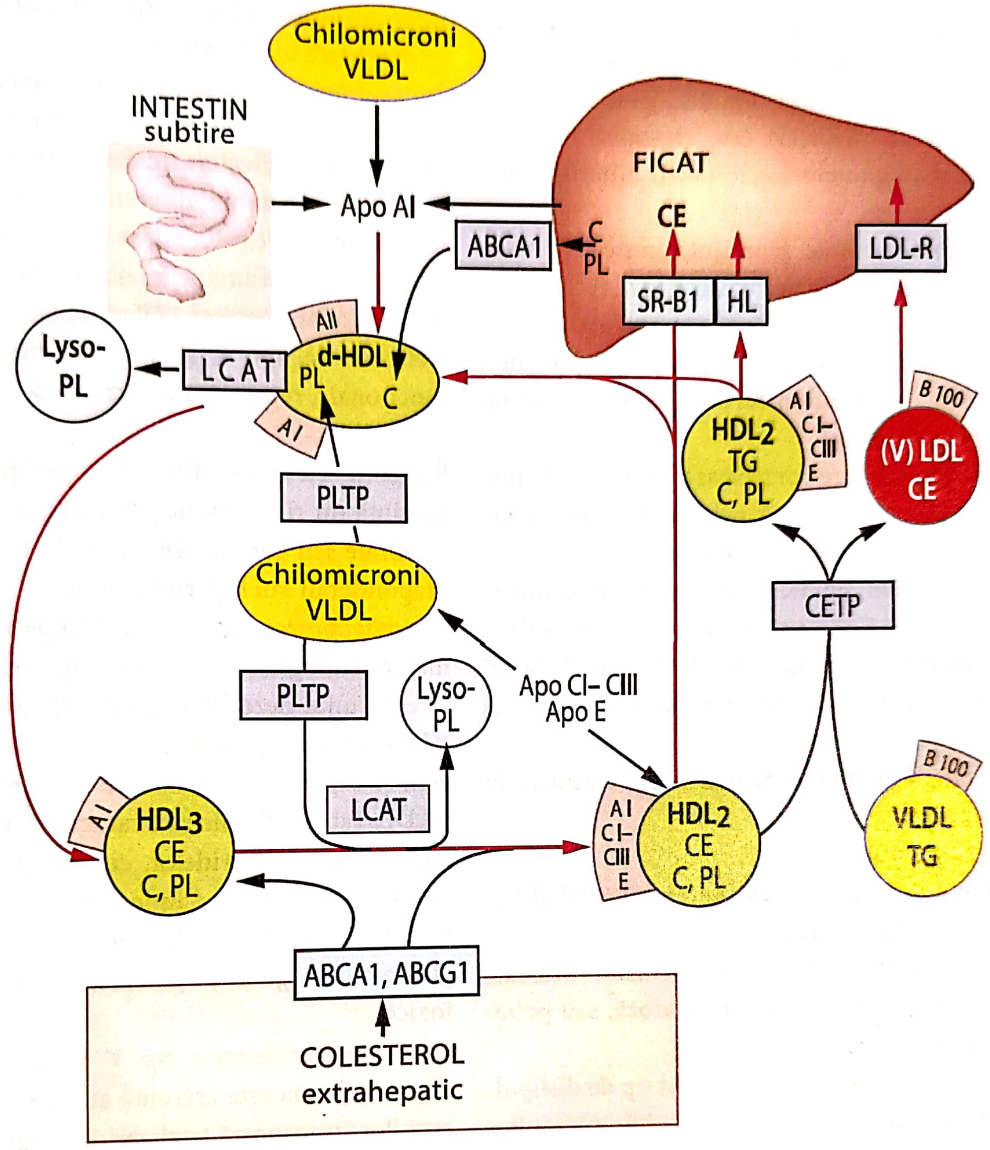


Figura 7.35 *Structură schematică a receptorului pentru LDL. De remarcat organizarea moleculară a acestui receptor care recunoaște apolipoproteina B100 din structura LDL (adaptat după Petrides, 2014).*



ABCA1, ABCG1: Transportori de lipide
diskoidale HDL; *CETP:* Cholesterinester-Transferprotein;

C: Colesterol; CE: Ester de colesterol d-HDL: pre-beta HDL

CETP: Proteina de transport pentru esteri de colesterol LCAT: Lecitin-colesterol aciltransferaza; *LDL-R:* receptor LDL; *PI*: fosfolipid; PITP: proteina de transfer a fosfolipidelor

Figura 7.36. *Rolul HDL în transportul colesterolului de la periferie către ficat.*

Scanned with OKEN Scanner

Patobiochimie

Variaţia cantitativă a lipidelor plasmatice a uneia din fracţiunile lipoproteice, sau modificarea raportului dintre diversele componente este denumită **dislipidemie** sau **dislipoproteinemie**. Pentru stabilirea riscului de ateroscleroză, un deziderat important pentru practica medicală este creşterea nivelului plasmatic al lipoproteinelor, respectiv **hiperlipoproteinemiile**.

Hiperlipoproteinemiile, reprezintă creşterea nivelului unor fracţiuni normale cum ar fi LDL (β-lipoproteine) şi HDL (α-lipoproteine) sau apariţia în ser a chilomicronilor şi/sau a VLDL (pre-β-lipoproteine), lipoproteine ce lipsesc in serul recoltat dimineata, după o noapte de post.

Alterarea genelor care controlează lipointeza, transportul şi utilizarea lipoproteinelor este fctorul determinat al disproteinemiilor ereditare.

Alterarea tabloului lipidic sanguin poate fi secundară altor maladii. Conform clasificării lui Frederickson, hiperlipoproteinemiile se clasifică în 5 tipuri (I-V) tipul II manifestându-se în două variante II.a şi II.b.

Tipurile de hiperlipoproteinemii se clasifică în funcţie de:

- aspectul serului;
- variaţia cantitativă a colesterolului total şi triacilglicerolilor serici;
- variaţia cantitativă a lipoproteinelor evaluate prin electroforeză în gel de agaroză, sau poliacrilamidă.

Hiperlipoproteinemia de tip I. Acest tip de dislipidemie se caracterizează prin prezenţa chilomicronilor în cantitate mare (lipidograma prezintă o bandă intensă în regiunea chilomicronilor).

Serul are un aspect lăptos şi prin păstrare la rece separă un strat cremos de triacilgliceroli.

Principala deficienţă biochimică a acestui tip de dislipidemie, constă într-o carenţă a lipoproteinlipazei, enzimă implicată în metabolizarea chilomicronilor. Boala se manifestă clinic din primele luni de viaţă prin dureri abdominale, hepatosplenomegalie, depuneri de lipide în ţesuturi (xantoame).

Hiperlipoproteinemia de tip II se caracterizează printr-o deficienţă a receptorilor membranari pentru LDL, ceea ce duce la creşterea concentraţiei LDL şi a colesterolului vehiculat de LDL.

În forma pură a bolii (IIa.), modificarea lipidică majoră este hiper-colesterolemia şi creşterea LDL.

În forma IIb se adaugă şi o creştere VLDL concomitent cu hipertrigliceridemie. Riscul pentru ateroscleroză este foarte ridicat.

Hiperlipoproteinemia de tip III (hiperlipoproteinemie cu bandă βlărgită). Această anomalie se caracterizează prin creşterea concomitentă a triacilgliceroliIor şi colesterolului seric. Lipidograma cuprinde o bandă βlargă care acoperă şi zona pre β, fapt care se explica prin sinteza unei lipoproteine anormale cu proprietăţi comune LDL + VLDL.

Deficitul de apo E şi sinteza unei proteine nefuncţionale, reprezintă defectul biochimic al acestei anomalii.

Pacienţii cu acest tip de hiperlipoproteinemie, prezintă un risc crescut pentru accidente vasculare cerebrale sau coronariene, fiind în acelaşi timp supraponderali sau hiperuricemici.

Hiperlipoproteinemia tip IV (hipertrigliceridemie majoră endogenă, hiperbetalipoproteinemie) se datorează unui dezechilibru între fluxul plasmatic de VLDL, ce transportă trigliceridele sintetizate endogen, şi capacitatea redusă de epurare plasmatică a VLDL. Tabloul lipidic este caracterizat prin creşterea VLDL şi a trigliceridelor, colesterolul este normal sau moderat crescut. Clinic se manifestă prin obezitate, diabet. Tablou clinic asemănător cu cel indus de consumul exagerat de glucide, alcoolism, substanţe toxice.

Hiperlipoproteinemia tip V în aceasta afecţiune trigliceridemia este crescută atât pe seama chilomicronilor (transportă trigliceridele exogene) cât şi pe seama VLDL (transportă trigliceridele endogene). Lipemia creşte ca urmare a unui prânz bogat în lipide şi glucide.

Manifestările clinice apar la vârsta adultă şi se caracterizează prin: hepatosplenomegalie, dureri abdominale, xantoame eruptive şi risc crescut pentru boli vasculare aterosclerotice.

Hipolipoproteinemiile familiale

Boala Tangier (deficit familial de HDL) se caracterizează prin deficit în sinteza apo-A, component proteic al HDL. Concentraţia plasmatică a HDL este redusă ca şi colesterolul- HDL şi fosfolipidele. Boala se manifestă precoce cu acumularea colesterolului în numeroase celule, hipertrofie amigdaliană, splenomegalie, anomalii neurologice.

Scanned with OKEN Scanner

Patobiochimie

Variaţia cantitativă a lipidelor plasmatice a uneia din fracţiunile lipoproteice, sau modificarea raportului dintre diversele componente este denumită **dislipidemie** sau **dislipoproteinemie**. Pentru stabilirea riscului de ateroscleroză, un deziderat important pentru practica medicală este creşterea nivelului plasmatic al lipoproteinelor, respectiv **hiperlipoproteinemiile**.

Hiperlipoproteinemiile, reprezintă creşterea nivelului unor fracţiuni normale cum ar fi LDL (β-lipoproteine) şi HDL (α-lipoproteine) sau apariţia în ser a chilomicronilor şi/sau a VLDL (pre-β-lipoproteine), lipoproteine ce lipsesc in serul recoltat dimineata, după o noapte de post.

Alterarea genelor care controlează lipointeza, transportul şi utilizarea lipoproteinelor este fctorul determinat al disproteinemiilor ereditare.

Alterarea tabloului lipidic sanguin poate fi secundară altor maladii. Conform clasificării lui Frederickson, hiperlipoproteinemiile se clasifică în 5 tipuri (I-V) tipul II manifestându-se în două variante II.a şi II.b.

Tipurile de hiperlipoproteinemii se clasifică în funcţie de:

- aspectul serului;
- variaţia cantitativă a colesterolului total şi triacilglicerolilor serici;
- variaţia cantitativă a lipoproteinelor evaluate prin electroforeză în gel de agaroză, sau poliacrilamidă.

Hiperlipoproteinemia de tip I. Acest tip de dislipidemie se caracterizează prin prezenţa chilomicronilor în cantitate mare (lipidograma prezintă o bandă intensă în regiunea chilomicronilor).

Serul are un aspect lăptos şi prin păstrare la rece separă un strat cremos de triacilgliceroli.

Principala deficienţă biochimică a acestui tip de dislipidemie, constă într-o carenţă a lipoproteinlipazei, enzimă implicată în metabolizarea chilomicronilor.

Boala se manifestă clinic din primele luni de viaţă prin dureri abdominale, hepatosplenomegalie, depuneri de lipide în ţesuturi (xantoame).

Hiperlipoproteinemia de tip II se caracterizează printr-o deficienţă a receptorilor membranari pentru LDL, ceea ce duce la creşterea concentraţiei LDL şi a colesterolului vehiculat de LDL.

În forma pură a bolii (IIa.), modificarea lipidică majoră este hiper-colesterolemia şi creşterea LDL.

În forma IIb se adaugă şi o creştere VLDL concomitent cu hipertrigliceridemie. Riscul pentru ateroscleroză este foarte ridicat.

Hiperlipoproteinemia de tip III (hiperlipoproteinemie cu bandă βlărgită). Această anomalie se caracterizează prin creşterea concomitentă a triacilgliceroliIor şi colesterolului seric. Lipidograma cuprinde o bandă βlargă care acoperă şi zona pre β, fapt care se explica prin sinteza unei lipoproteine anormale cu proprietăţi comune LDL + VLDL.

Deficitul de apo E şi sinteza unei proteine nefuncţionale, reprezintă defectul biochimic al acestei anomalii.

Pacienţii cu acest tip de hiperlipoproteinemie, prezintă un risc crescut pentru accidente vasculare cerebrale sau coronariene, fiind în acelaşi timp supraponderali sau hiperuricemici.

Hiperlipoproteinemia tip IV (hipertrigliceridemie majoră endogenă, hiperbetalipoproteinemie) se datorează unui dezechilibru între fluxul plasmatic de VLDL, ce transportă trigliceridele sintetizate endogen, şi capacitatea redusă de epurare plasmatică a VLDL. Tabloul lipidic este caracterizat prin creşterea VLDL şi a trigliceridelor, colesterolul este normal sau moderat crescut. Clinic se manifestă prin obezitate, diabet. Tablou clinic asemănător cu cel indus de consumul exagerat de glucide, alcoolism, substanţe toxice.

Hiperlipoproteinemia tip V în aceasta afecţiune trigliceridemia este crescută atât pe seama chilomicronilor (transportă trigliceridele exogene) cât şi pe seama VLDL (transportă trigliceridele endogene). Lipemia creşte ca urmare a unui prânz bogat în lipide şi glucide.

Manifestările clinice apar la vârsta adultă şi se caracterizează prin: hepatosplenomegalie, dureri abdominale, xantoame eruptive şi risc crescut pentru boli vasculare aterosclerotice.

Hipolipoproteinemiile familiale

Boala Tangier (deficit familial de HDL) se caracterizează prin deficit în sinteza apo-A, component proteic al HDL. Concentraţia plasmatică a HDL este redusă ca şi colesterolul- HDL şi fosfolipidele. Boala se manifestă precoce cu acumularea colesterolului în numeroase celule, hipertrofie amigdaliană, splenomegalie, anomalii neurologice.

Scanned with OKEN Scanner

Abetalipoproteinemia familială este determinată de o sinteză defectuoasă a apo-B şi apo-C, din chilomicroni şi VLDL. Profilul lipidic este modificat în sensul unei hipolipemii totale, sunt scăzute trigliceridele, colesterolul şi fosfolipidele. LDL, VLDL şi chilomicronii fiind absente.

Deficitele enzimelor implicate în digestia lipidelor au drept consecinţă malabsorbţia lipidică, imposibilitatea formării chilomicronilor, a absorbţiei intestinale a trigliceridelor şi a altor lipide din dietă. Tabloul clinic cuprinde şi tulburări neurologice, oftalmologice, hematologice datorate deficienţei lipidice a organismului.

Scanned with OKEN Scanner

8. NUCLEOTIDE ȘI ACIZI NUCLEICI

Acidul dezoxiribonucleic. Scurt istoric

În secolele trecute, se obișnuia să se spună despre ereditate "este totul în sânge". Oamenii credeau că trăsăturile de caracter se transmit de la părinti la copii prin sânge justificând astfel expresia, "relații de sânge". Unicul compus organic al nucleului a fost denumit acid nucleic acesta a fost descris pentru prima dată de cercetătorul elvețian Johann Friedrich Miescher (Fig. 8.1s), în 1869, care l-a izolat pentru prima dată din bandajele chirurgicale care conțineau leucocitele din sângele uman. El a denumit această structură "nucleină". Câtiva ani mai târziu, chimistul Phoebus Levene a utilizat aceste informații, determinând componentele nucleului. El a dat denumirea tehnică și descriptivă de acid dezoxiribonucleic. La începutul acestui secol, cercetătorii au concluzionat că ereditatea poate fi explicată prin activitatea cromozomilor. În anul 1900 Morgan și colaboratorii săi au dovedit că transmiterea culorii albe la musculițele de oțet, depinde de transferul cromozomilor de la insecta mamă la descendenții săi. Prin observații atente el a stabilit că unul dintre cei 4 cromozomi ai musculiței de oțet determină sexul acesteia. Prin urmare, culoarea albă a ochilor ar trebui să depindă de un singur cromozom. Folosind date statistice, privind asocierea dintre sex și culoarea albă a ochilor la Drosophila, Morgan a introdus teoria cromozomială (Fig. 8.2s). Urmatorul pas a fost găsirea răspunsului la o alta întrebare, dacă cromozomul sau o parte a acestuia, sunt responsabile de ereditate.

Fig. 8.1s *Cercetătorul elvețian Johann Friedrich Miescher*

Fig. 8.2s *TH Morgan*

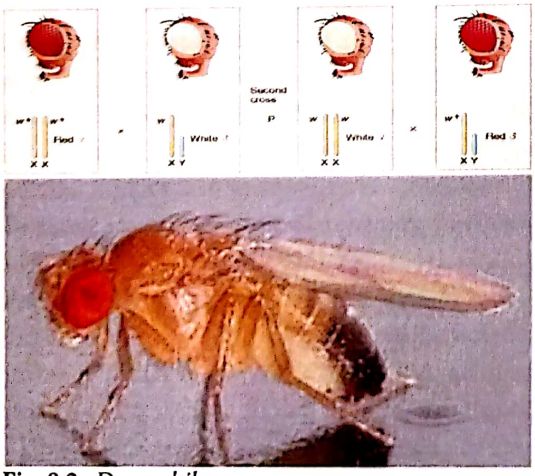


Fig. 8.2s *Drosophila*

Definiție

Acizii nucleici sunt polimeri ai nucleotidelor și au rol de stocare și transmitere a informației într-un sistem biologic reglabil. Aceștia se găsesc în două forme structurale de bază: acidul dezoxiribonucleic (ADN) cu rol primordial de stocare a informației și acidul ribonucleic (ARN) cu rol în transmiterea informației genetice.

Caracteristici generale

Unitățile de bază care intră în alcătuirea acizilor nucleici sunt nucleotidele. Acestea servesc pe de o parte la sinteza acizilor nucleici iar pe de altă parte îndeplinesc alte roluri funcționale:

1. servesc drept *sursă de energie*, prin transferul grupării fosfat. Un exemplu îl constituie ATP (adenozintrifosfatul – principalul compus macroergic din organism).
2. servesc drept *mediatori în semnalizarea celulară*. Cel mai important mesager secund este AMPc (derivat al AMP cu structură ciclică).
3. intră în *structura unor coenzime* importante: NAD, FAD, FMN, coenzimaA.
4. servesc drept *intermediari metabolici* importanți în transferul unor grupări. De exemplu S-adenozil-metionina (SAM) servește ca donor de grupări metil.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleotide şi nucleozide. Structură. Nomenclatură

Nucleotidele sunt alcătuite la rândul lor din trei componente: o bază azotată, o pentoză şi o grupare fosfat (Fig. 8.1).

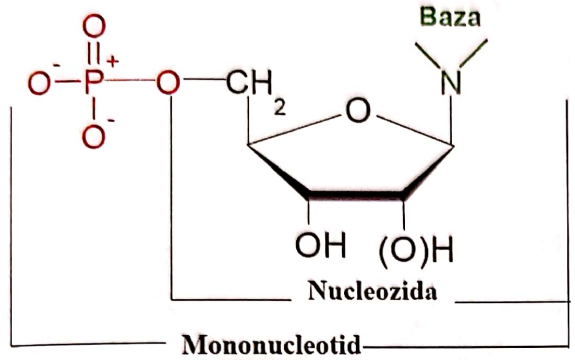


Figura 8.1. *Nucleotidele sunt alcătuite din trei componente: o bază azotată, o pentoză şi o grupare fosfat.*

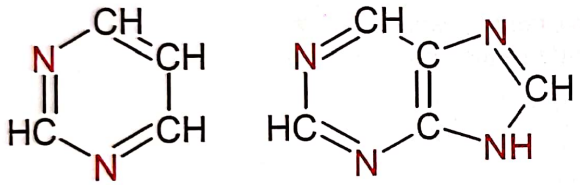


Figura 8.2. *Bazele azotate care intră în alcătuirea acizilor nucleici au la bază doi compuşi heterociclici diferiţi: purinic şi pirimidinic.*

Bazele azotate

Bazele azotate care intră în alcătuirea acizilor nucleici au la bază doi compuşi heterociclicidiferiţi: purina şi pirimidina (Fig. 8.2). În celulă se găsesc cinci baze azotate majore, două derivate de la purină: adenina şi guanina (Fig. 8.3). Celalalte trei sunt derivate de la pirimidina şi sunt: citozina, timina şi uracilul (Fig. 8.4). Trebuie precizat că bazele azotate, datorită structurii lor pot prezenta fenomenul de tautomerie ceto-enolică. Adică, pot exista sub forma a doi compuşi care pot să difere între ei prin poziţia unei duble legături şi a unui atom de hidrogen (Fig. 8.5).
În afara bazelor principale, există în celulă şi baze minore ce sunt compuşi derivaţi din bazele majore dar care au suferit reacţii de metilare sau tiolare. Un exemplu este 5-hidroxi-metil-citozina (Fig. 8.4).

Nucleozide şi nucleotide

Bazele purinice şi pirimidinice sunt legate de riboză sau 2-dezoxiriboza (Fig. 8.6) printr-o legătură N-glicozidică la atomul de azot 1(N1) din structura pirimidinei şi la atomul de azot 9 (N9) din structura purinei. Compusul rezultat se numeşte *nucleozid* (Fig. 8.7).

Nucleozidele se găsesc în celulă sub formă fosforilată compuşi sunt numiti *nucleotide* (Fig. 8.8). În funcţie de numărul grupărilor fosfat conţinute în moleculă, nucleotidele pot fi mono-, di-sau trifosforilate.

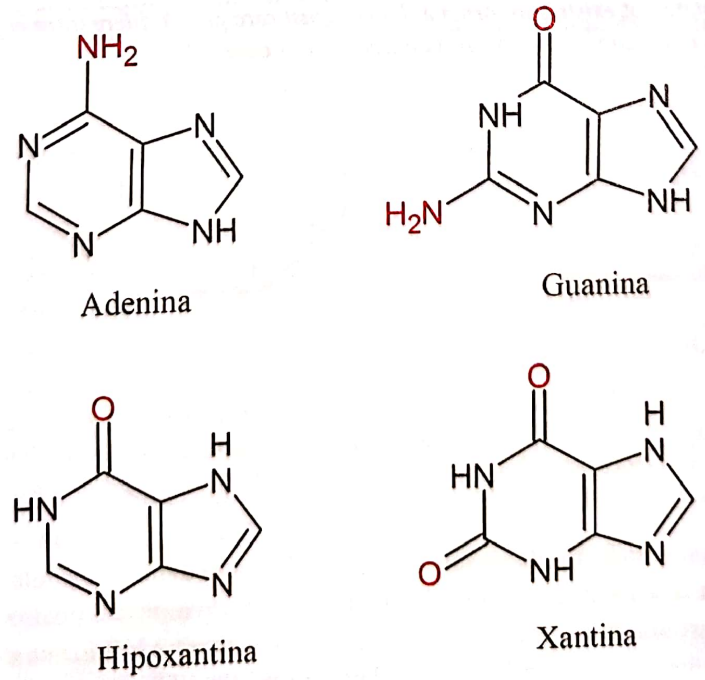


Figura 8.3. *Bazele purinice sunt adenina şi guanina.*

Scanned with OKEN Scanner

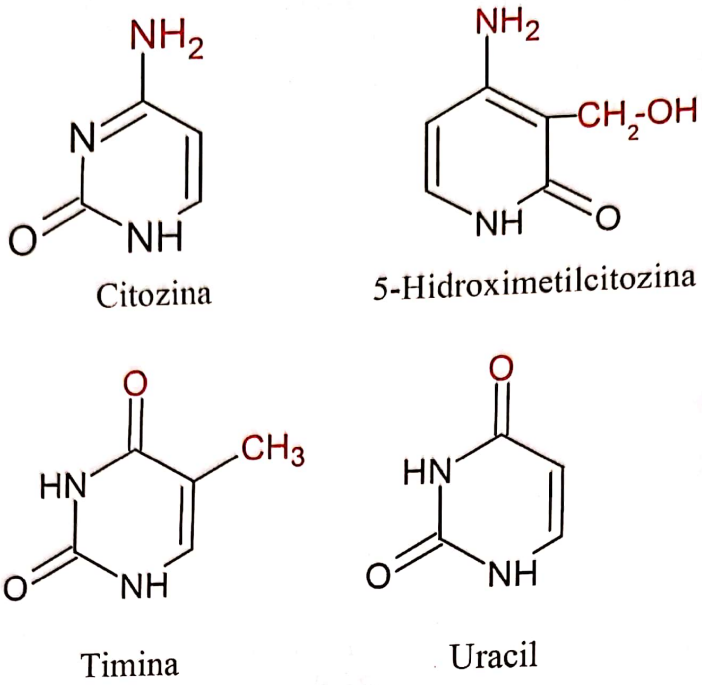


Figura 8.4. *Bazele pirimidinice sunt: citozina, timina şi uracilul. Un exemplu de bază pirimidinică minoră este 5-hidroxi-metil-citozina.*

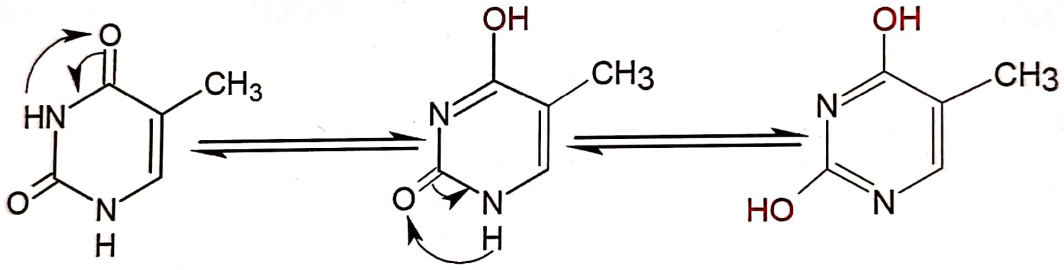


Figura 8.5. *Bazele azotate pot exista sub forma a doi compuşi care pot să difere între ei prin poziţia unei duble legături şi a unui atom de hidrogen (tautomerie ceto-enolică).*

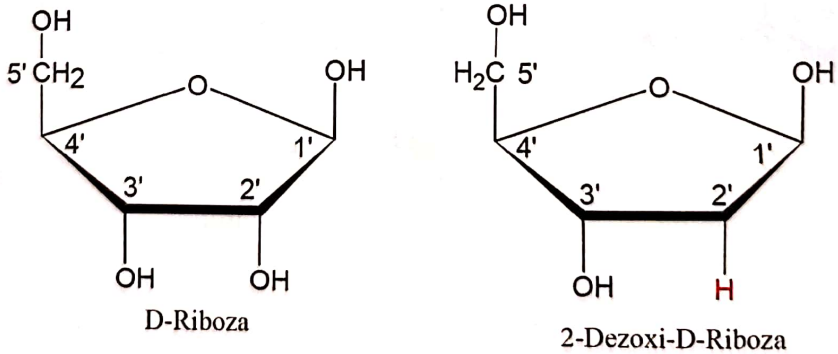
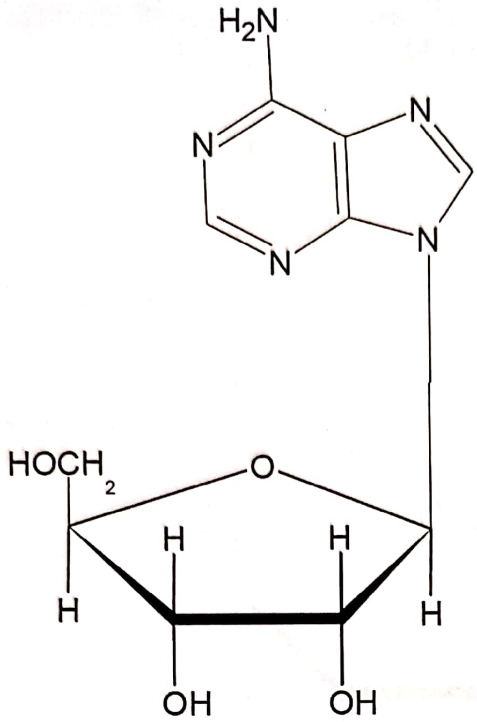


Figura 8.6. *Bazele purinice şi pirimidinice sunt legate de riboză sau 2-dezoxiriboză printr-o legătură N-glicozidică la atomul de azot 1(N1) din structura pirimidinei şi la atomul de azot 9 (N9) din structura purinei.*

Observaţie: pentru a deosebi un nucleotid de un nucleozid trebuie să fim atenţi la atomul de carbon 5 din structura ribozei, dacă are ataşat sau nu, o grupare fosfat.

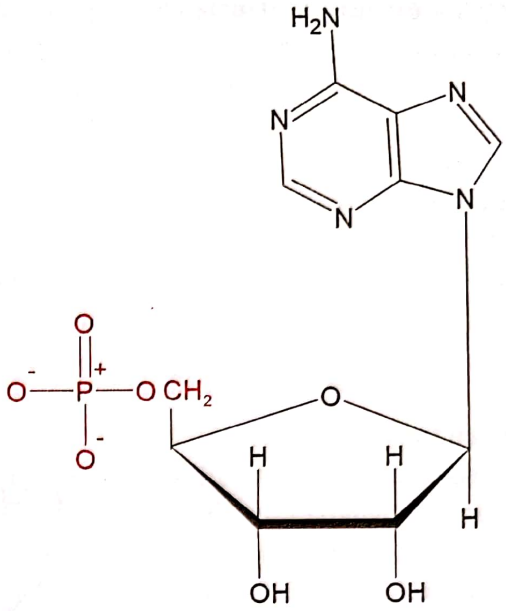
Nucleotidele sunt denumite şi folosind abrevierea de trei litere, spre exemplu adenozinmonofosfatul (Fig. 8.8) se prescurtează AMP, forma di- şi trifosforilată ADP şi respectiv ATP.

Scanned with OKEN Scanner



Adenozina

Figura 8.7. *Un nucleozid este format dintr-o bază azotată și un rest de pentoză riboză sau de 2-dezoxiriboză.*



Adenozin 5'-monofosfat

Figura 8.8. *Nucleozidele se găsesc în celulă sub formă fosforilată la atomul de carbon 5 din structura pentozei, acești compuși sunt numiti nucleotide.*

În structura ADN, pentoza este 2-dezoxiriboza, din acest motiv în abreviere se folosește litera "d". Astfel, dezoxiadenozinmonofosfatul se prescurtează dAMP.

Observatie: pentru a identifica cele 2 forme trebuie să fim atenți la atomul de carbon 2 din structura ribozei.

Nucleotide libere

Nucleotidele sunt monomeri ce intră în compoziția acizilor nucleici (Tab 8.1). În afara rolului de construcție al acizilor nucleici, există în organism nucleotide libere cu funcții importante pentru țesuturi și organe. Astfel, *adenozin 3′,5′-monofosfatul (AMPciclic)* este un compus ciclic derivat de la AMP (Fig. 8.9), ce îndeplinește rolul de mesager secund în transmiterea informației din exteriorul în interiorul celulei. Un alt nucleotid cu rol energetic, prin capacitatea de a ceda gruparea fosfat din poziția gama este *adenozin-trifosfatul (ATP)*(Fig. 8.10).

S-adenozin-metionina îndeplinește rolul de donor de grupări metil în reacțiile de metilare din organism (Fig. 8.11).

Analogi structurali ai bazelor azotate și nucleozidelor utilizate în scop terapeutic

Ele acționează prin încorporarea în acizii nucleici, blocând sinteza acestora prin inhibarea unor enzime.

- 5-fluorouracilul este utilizat în terapia
- cancerului, deoarece împiedică proliferarea celulelor tumorale (Fig. 8.12).
- Allopurinolul, este un analog al xantinei care inhibă xantinoxidaza, blocând astfel calea de siteză a acidului uric (Fig. 8.13).

Structura și funcțiile ADN

În majoritatea organismelor vii informația genetică este stocată în ADN. Acesta este sintetizat și localizat în *nucleul* celulelor vii (Fig. 8.14).

Denumirea de acid dezoxiribonucleic provine de la faptul că pentoza conținută în structura ADN este dezoxiriboza.

Rolurile ADN în organism:

1. Funcția ADN este aceea de *stocare a informației genetice și de control al sintezei proteinelor în celulă.*

Scanned with OKEN Scanner

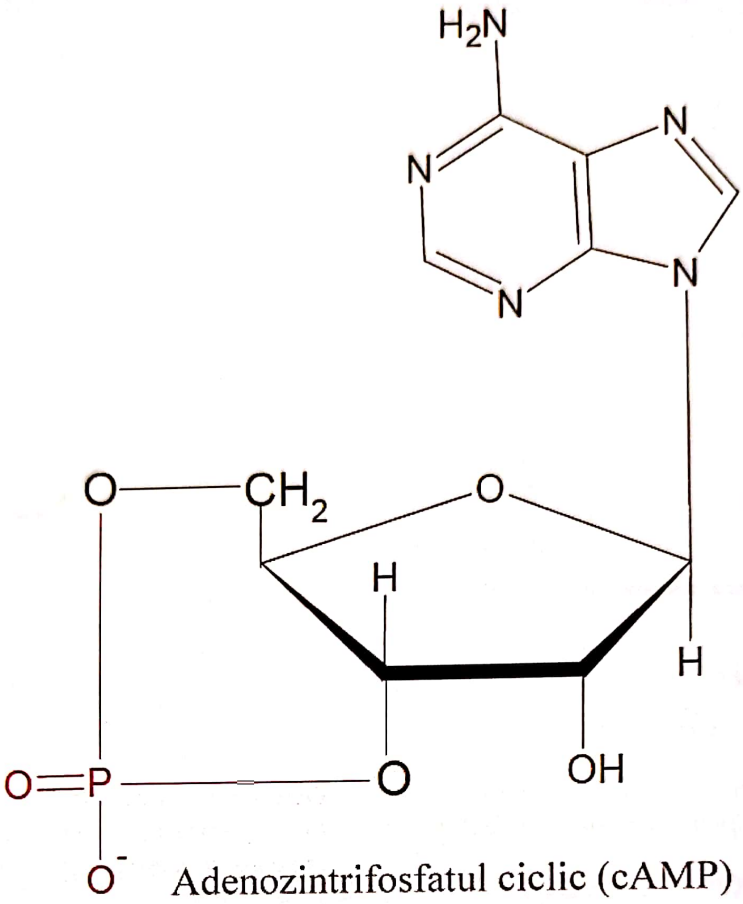


Figura 8.9. *Adenozin 3´,5´-monofosfatul ciclic (AMPciclic) este un compus ciclic derivat de la AMP ce îndeplineşte rolul de mesager secund în căile de semnalizare.*

Tabel 8.1 Nomenclatura nucleotidelor şi nucleozidelor

Baza	Nucleozid	Nucleotid	Prescurtare
Adenina	Adenozina	AMP*	A
Guanina	Guanozina	GMP	G
Uracil	Uridina	UMP	U
Timina	Timidina	dTMP**	T
Citozina	Citidina	CMP	C
Hipoxantina	Inozina	IMP	I
Xantina	Xantozina	XMP	X

***Adenosin-5'-monofosfat; **Dezoxitimidinmonofosfat**

Scanned with OKEN Scanner

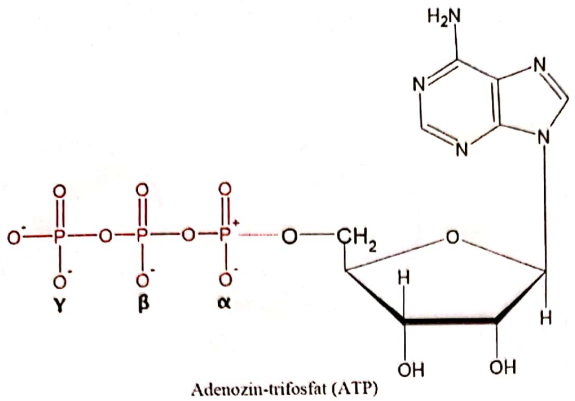


Figura 8.10. *Adenozin-trifosfatul (ATP) este un nucleotid cu rol energetic în celulă, universal.*

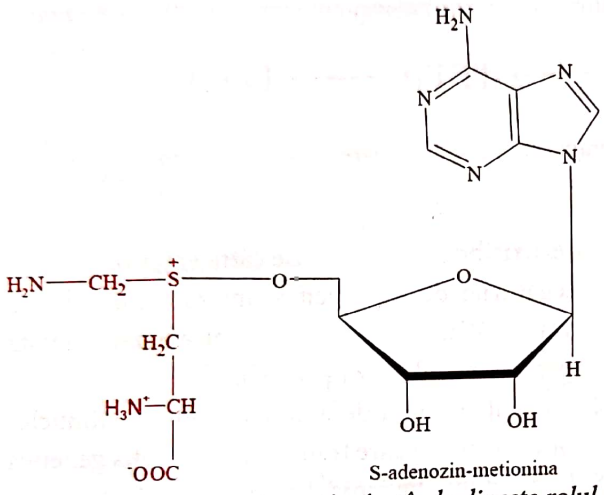


Figura 8.11. *S-adenozin-metionina îndeplinește rolul de donor de grupări metil în reacțiile de metilare din organism.*

2. Transmiterea informației genetice:
caracteristicile ereditare sunt transmise celulelor fiice prin replicarea ADN, în timpul diviziunii celulare (*mitoza*) în care cele două lanțuri ale ADN sunt separate și nucleotidele libere sunt atașat conform regulii bazelor pereche cu ajutorul ADN polimerazei, rezultând două molecule identice cu cea inițială (Fig. 8.15).

3.Controlul sintezei proteice care este realizat în primul rând la nivel de ARN mesager dar și prin controlul sintezei proteinelor care alcătuiesc ribozomii precum și la nivel de ARN de transfer. În anul 1944, americanul Oswald Avery a demonstrat pentru prima dată că nucleotidele sunt legate între ele prin *legături fosfodiesterice* între atomul de carbon 3` al pentozei unui nucleotid și atomul de carbon 5´- al pentozei celuilalt nucleotid.

Aceasta reprezintă **structura primară** a ADN. Informația genetică este codificată în ordinea nucleotidelor legate prin legături fosfodiesterice. În secvența nucleotidelor legate prin legătura fosfodiesterică este înscrisă informația genetică. Partea variabilă fiind reprezentată de bazele azotate: adenina (A), timina (T), citozina (C) și guanina (G) (Fig. 8.16). Fragmentele mai mici de acizi nucleici ce conțin 50 sau mai multe resturi de nucleotide se numesc *oligonucleotide.*

Structura secundară a ADN-ului a fost inițial semnalată de descoperirea lui Erwin Chargaff (*regula Chargaff*), care prin analiza cromatografică concluzionează că numărul resturilor de adenina este egal cu cel al timinei și cel al guaninei cu citozina:

$$A+G = T+C$$

Această observație a permis ulterior, cercetătorilor James Watson și Francis Crick, împreună cu Maurice Wilkins și Rosalind Franklin, să descrie modelul structural al ADN. Ei au formulat ipoteza că ADN-ul este alcătuit din două lanțuri polinucleotidice perechi, antiparalele, legate între ele prin legături de hidrogen formate între baze. Conceptul bazelor perechi se bazează pe formarea de legături de hidrogen între bazele purinice de pe un lanț cu bazele pirimidinice de pe celălalt lanț. Spre exemplu, adenina de pe un lanț formează două legături de hidrogen cu timina de pe celalalt lanț iar guanina și citozina pot forma trei legături de hidrogen (Fig. 8.17).

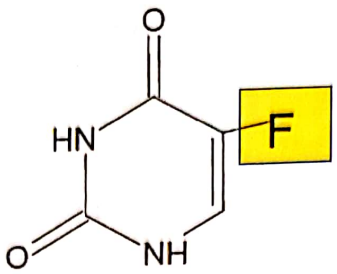
Formarea de legături de hidrogen între bazele A:T și G:C stă la baza înțelegerii modului de replicare și copiere al informației genetice din ADN și se numește complementaritate. Cele două lanțuri complementare sunt *orientate în direcții opuse* (Fig. 8.17).

Structura terțiara a ADN

Majoritatea moleculelor de ADN sunt dublu helicoidale. Unele virusuri conțin ADN monocatenar iar bacteriofagii au ADN circular. *Dublul helix* tip B este forma predominantăî n celulă, a fost descris de Watson și Crick în 1956 și are următoarele caracteristici:

1. cele două lanțuri antiparalele se răsucesc spre dreapta în jurul unui ax central
2. bazele azotate fiind hidrofobe se găsesc orientate către interiorul helixului iar gruparea fosfat și

Scanned with OKEN Scanner



5-Fluorouracil

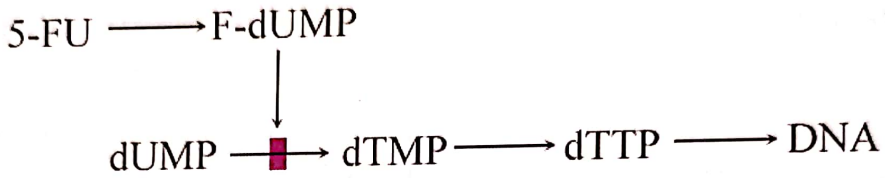


Figura 8.12. *5-fluorouracilul este utilizat în terapia cancerului, deoarece împiedică proliferarea celulelor tumorale.*

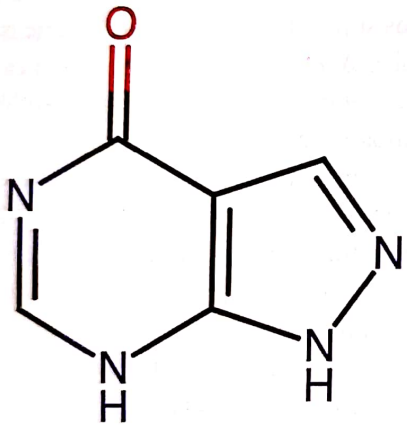


Figura 8.13. *Allopurinolul este un analog al xantinei utilizat în tratamentul gutei.*

dezoxiriboza sunt dispuse către exterior

3. legăturile de hidrogen și interacțiunile de tip van de Waals ce se stabilesc între bazele azotate perechi stabilizează alfa helixul
4. secvența bazelor de-a lungul lanțului polinucleotidic este cea care transferă informația genetică
5. lanțul dublu helicoidal prezintă două adâncituri caracteristice, una mare și alta mică (Fig. 8.18)

ADN-ul este o moleculă extrem de flexibilă, acesta putând adopta și alte forme spațiale: forma Z (în zig-zag) și forma A (mult mai compactă decât forma B). Aceste schimbări conformaționale nu afectează caracteristicile de bază ale structurii ADN:

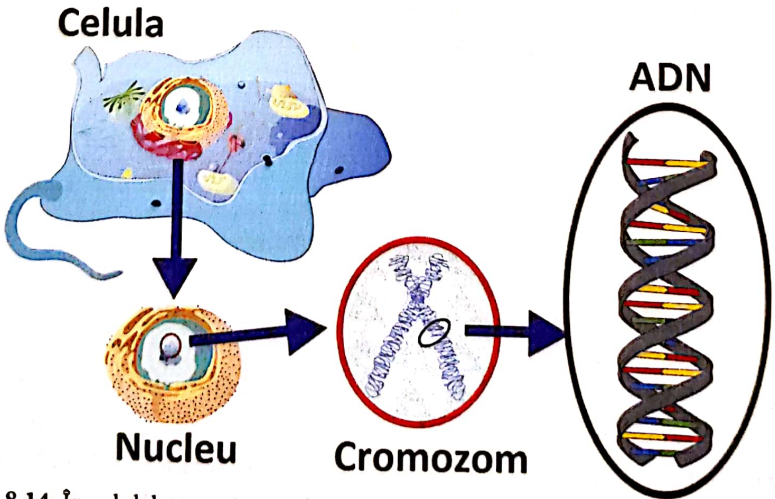


Figura 8.14. În celulele eucariote informația genetică este stocată în ADN din nucleu.

Scanned with OKEN Scanner

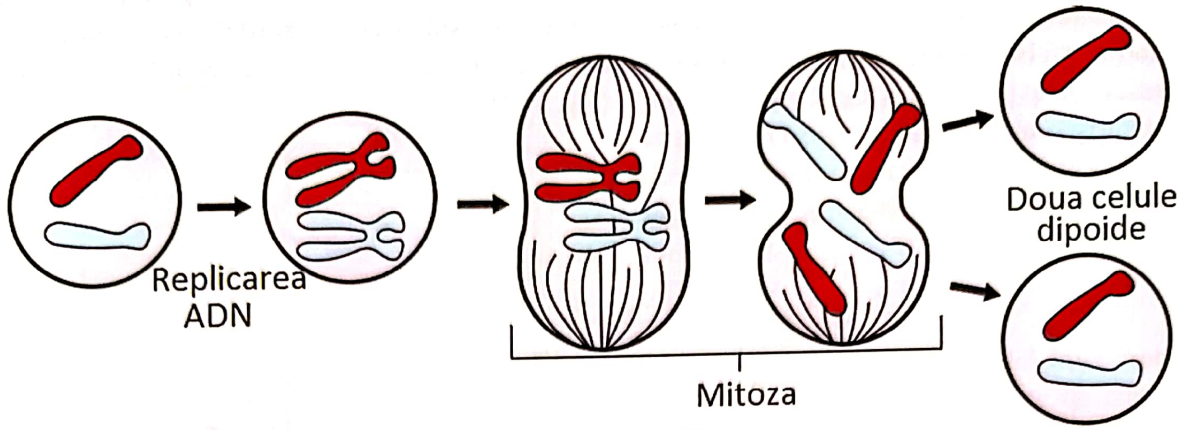


Figura 8.15. *Transmiterea informației genetice la celulele fiice are loc în timpul diviziunii celulare (mitoza) prin replicarea ADN.*

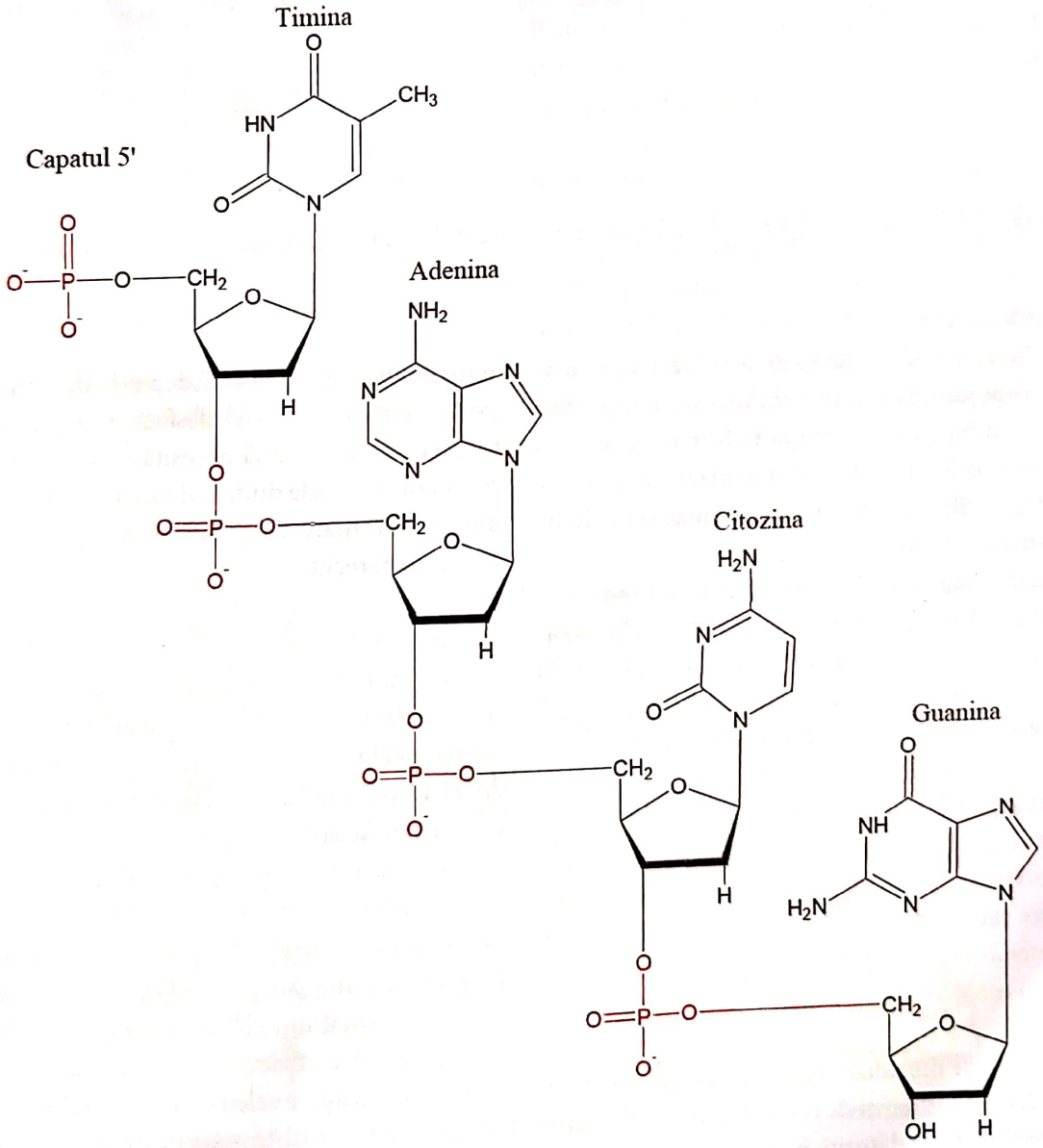


Figura 8.16. *Structura primară a ADN-ului.*

Scanned with OKEN Scanner

complementaritatea, orientarea antiparalelă şi numărul egal de baze pereche. Forma B este cea mai stabilă, forma A este ipotetică iar forma Z apare în celulele eucariote şi procariote (Fig. 8.19).

Denaturarea ADN determină o creştere a absorbţiei în UV. Procesul invers denaturării, reasocierea, determină o scădere a absorbanţei în UV la 260nm (Fig. 8.20).

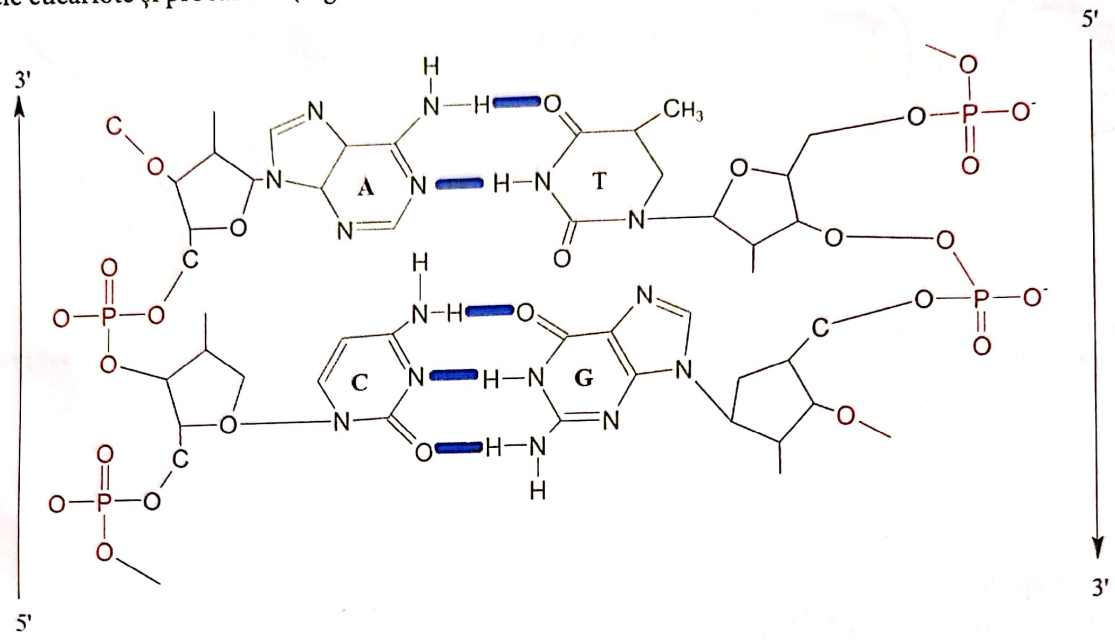


Figura 8.17. *Formarea de legături de hidrogen între bazele A:T şi G:C se numeşte complementaritate.*

Proprietăţile ADN

Dublul helix are capacitatea de a se desface şi a se reface sub acţiunea agenţilor chimici şi a temperaturii. Astfel, sub acţiunea agenţilor chimici bazele din structura acizilor nucleici sunt ionizate şi astfel se desfac legăturile de hidrogen ce stabilizeaza helixul, acest proces se numeşte *denaturare.*

Dacă desfacerea helixului are loc datorită temperaturii procesul se numeşte topire (melting), iar temperatura la care jumatate din structura helicoidală se pierde se numeşte temperatură de topire (temperatura de melting-Tm). Dacă temperatura scade lanţurile monocatenare complementare se pot realinia încet şi prin intermediul perechilor de baze complementare, refacând astfel un dublu helix identic cu cel original. Acest proces este numit renaturare, realiniere sau hibridizare. *Procesul prin care un lanţ monocatenar al ADN este asociat prin complementaritate la o catenă ARN este numit hibridizare.*

Acest proces de hibridizare este utilizat frecvent atât în scop diagnostic dar şi de cercetare. ADN absoarbe în ultraviolet (UV) datorită bazelor purinice şi pirimidinice, având un maxim de absorbţie la 260nm.

Temperatura de "melting" depinde de tipul de baze azotate conţinute, astfel desfacerea legăturilor dintre guanină şi citozină necesită o energie mai mare comparativ cu cele dintre adenină şi timină, datorită unui număr mare de legături de hidrogen, 3/pereche faţă de 2/pereche.

Împachetarea ADN

ADN-ul uman are o lungime lineară de aproximativ 1m. Pentru a putea fi localizat la nivelul nucleului unei celule care are aproximativ 15 micrometri, ADN-ul trebuie să formeze o structură extrem de compactă. Această compactare este posibilă cu ajutorul histonelor, proteine bazice ataşate la ADN şi formării unor structuri succesive supramoleculare deosebit de compacte (Fig. 8.21). Mai întâi 140 de baze perechi din lanţul de ADN se încolăcesc pe un octamer format din cele 4 histone, H2A, H2B, H3, H4, formând o structură nucleosomală în timp de histona H1 leagă nucleosomii, vizibili la microscopul electronic ca nişte mărgele înşirate pe o aţă (Fig. 8.22).

Scanned with OKEN Scanner

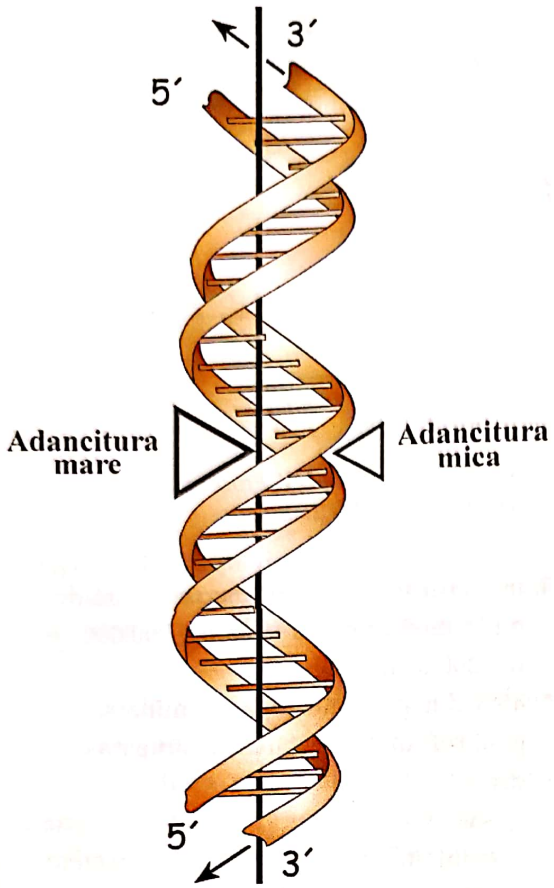


Figura 8.18. *Structura secundară dublu helicoidala a lanţului de ADN prezintă două adâncituri caracteristice, una mare şi alta mică.*

Histonele sunt proteine care au în compoziţie un număr mare de aminoacizi bazici ca arginina şi lizina şi deci sunt încărcate pozitiv la pH fiziologic. Sarcina pozitivă duce la formarea unor complexe bazate pe atracţie electrostatică puternică între gruparea fosfat din nucleotide care este încărcată negativ şi sarcinile pozitive generate de cei doi aminoacizi bazici menţionaţi.

ADN-ul şi genele

Care este conexiunea biochimică între cromozomi şi caracterele ereditare codificate de cromozomi? La începutul anilor 1900, geneticienii au început să folosească termenii "particula genetică" pentru a descrie factorii de ereditate care apar pe cromozomi descrişi de Gregor Mendel din bobul de mazăre. Prin anii 1920, la sugestia omului de ştiinţă scandinav, Willard Johannsen, geneticienii au fost de acord să utilizeze termenul de genă (derivat din grecescul "*gennan*" care înseamnă "pentru a produce"). Informaţiile biochimice conţinute în cromozomi, sunt convertite într-o secvenţă de aminoacizi din proteine care sunt constituenţi universali ai celulelor, ţesuturilor, organelor şi sistemelor. Prin urmare, toate părţile anatomice ale noastre reflectă activitatea fizioligică a cromozomilor. Mai mult, activitatea noastră, este reglată de catalizatori biologici numiţi enzime ce fac parte din clasa proteinelor.

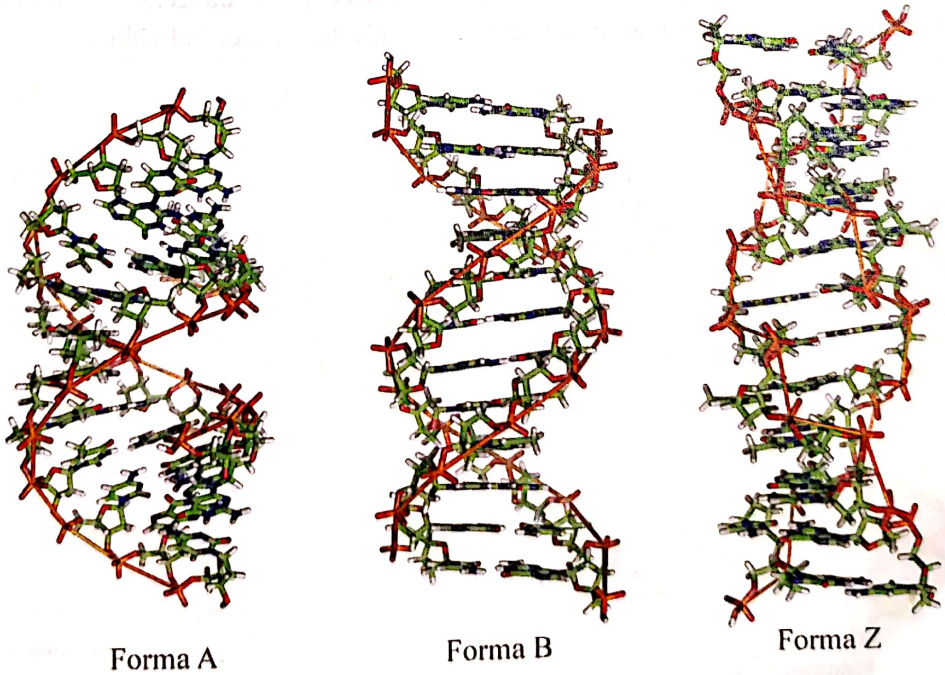


Figura 8.19. *Forma B din structura secundară dublu helicoidala a lanţului de ADN este cea mai stabilă, forma A este ipotetică iar forma Z apare în celulele eucariote şi procariote.*

Scanned with OKEN Scanner

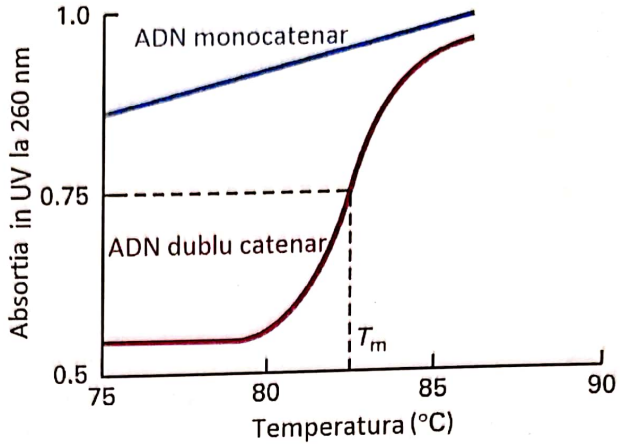


Figura 8.20. *Denaturarea ADN determină o creştere a absorbţiei în UV. Procesul invers denaturării, reasocierea, determină o scădere a absorbanţei în UV la 260nm.*

Astfel structura chimică a corpului este determinată genetic, acidul dezoxiribonucleic fiind substanţa cheie a cromozomilor.

Analiza genomului uman

În anul 2001 a fost publicată identitatea celor 3,2 miliarde de baze din genomul uman. În sumar, genomul uman se caracterizează prin:

1. aproximativ 25.000 gene care codifică aproximativ 150.000-200.000 proteine
2. circa 30% din genom este transcriptionat în ARN, dar numai 2% codifică proteine. Cea mai lungă genă este cea care codifică proteina numită distrofina care este alcătuita din 450 aminoacizi
3. numărul total de proteine codificate de genomul uman se ridică la aprox. 200.000, grupate în 1200 de familiii
4. 45% din genomul uman conţine secvenţe cu grad ridicat de repetabilitate grupate sub formă de:
   -sateliţi
   -minisateliţi
   -microsateliţi.
5. Diferenţa dintre doi indivizi este reflectată de "single nucleotide polymorphism" (SNP) care reprezintă diferenţa dintre 2 segmente de ADN aparţinând celor 2 indivizi şi care diferă la nivelul bazelor individuale.

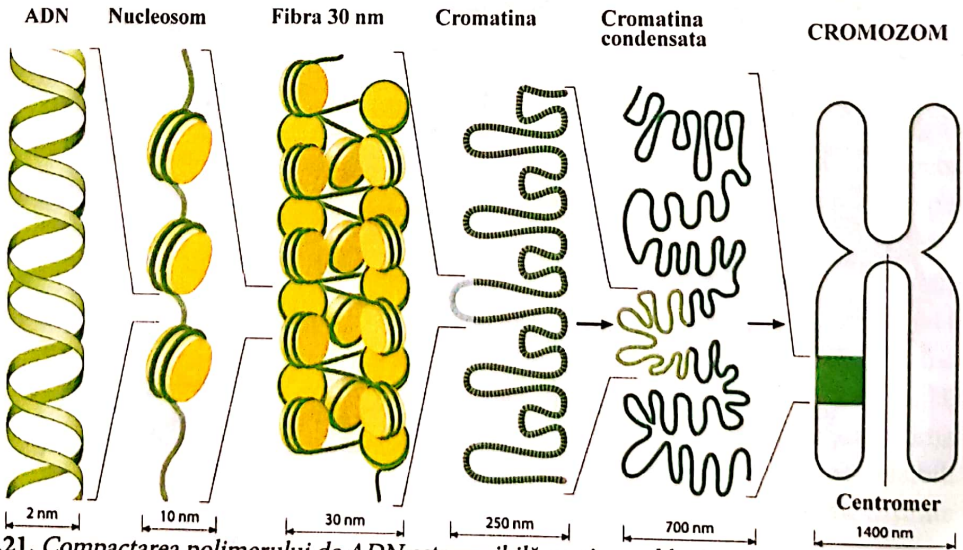


Figura 8.21. *Compactarea polimerului de ADN este posibilă cu ajutorul histonelor cu formarea unor structuri succesive supramoleculare deosebit de compacte.*

Scanned with OKEN Scanner

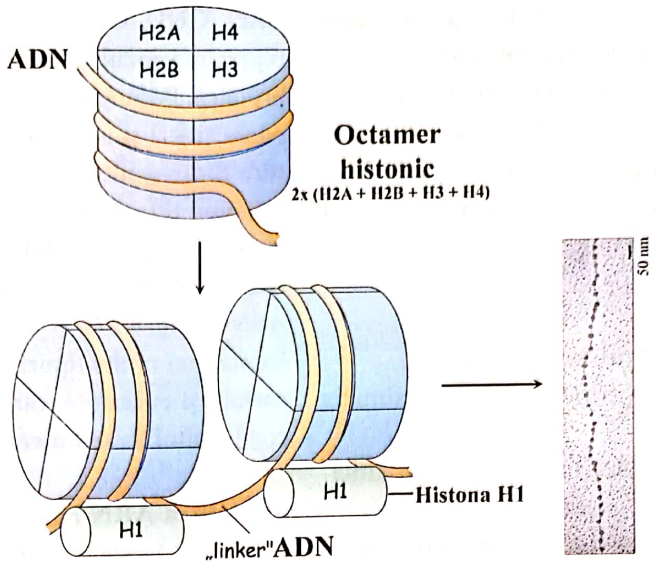


Figura 8.22. *Lanțul de ADN se încolăceste pe un octamer format din cele 4 histone, H2A, H2B, H3, H4, formând o structură nucleosomală în timp de histona H1 leagă nucleosomii, vizibili la microscopul electronic ca niște mărgele înșirate pe o ață (imagine, dreapta).*

De exemplu, persoana X are la poziția 200 din gena care codifică o transaminază, baza adenina în timp ce persoana Y are în aceeiași poziție, timina. La ora actuală se cunosc aprox. 3 milioane de SNP și se crede că medicina viitorului va fi una individualizată, determinată de aceste diferențe de baze nucleotidice la nivel de individ care influențează efectele terapeutice ale medicamentelor (Fig. 8.23).

Structura și funcțiile ARN

Acizii ribonucleici sunt compuși de policondensare a ribonucleotidelor. Componenta glucidică din structura ARN este reprezentată de riboza (conține grupare OH la atomul de carbon 2′) iar bazele azotate sunt: adenina, citozina, guanina și uracilul. Analog cu structura ADN-ului ribonucleotidele sunt legate între ele, prin legături 3′- 5′fosfo-diesterice (Fig. 8.24). Spre deosebire de ADN, în compoziția ARN nu există același număr de baze perechi decât

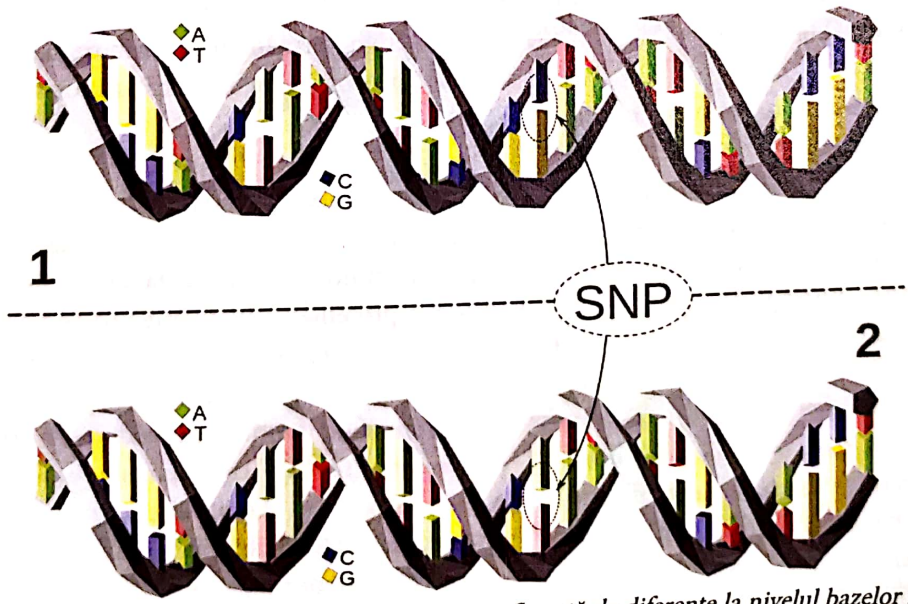


Figura 8.23. *Diferența dintre doi indivizi este reflectată de diferente la nivelul bazelor individuale. De exemplu, persoana X are la poziția 200 din gena care codifică o transaminază baza Adenina în timp ce persoana Y are în aceeiași poziție, Timina.*

Scanned with OKEN Scanner

la nivelul unor regiuni limitate. Din acest motiv, molecula de ARN este predominant monocatenară. Acolo unde se găsesc baze complementare acesta se organizează în regiuni dublu helicoidale. Porţiunile nehelicoidale capată aspectul unor bucle. ARN-ul este distribuit în celulă mai ales în citoplasmă, doar 10% se găseste în nucleu.

Tipuri de ARN

ARN-ul poate fi împărţit în mai multe tipuri:

1. ARN mesager (ARNm) reprezintă aproximativ 5%
2. ARN de transfer (ARNt) reprezintă aproximativ 10-15%
3. ARN ribosomal (ARNr) reprezintă aproximativ 80-85%

Aceste trei tipuri majore participă direct în procesul de sinteză al proteinelor, restul fiind implicate în replicarea sau procesarea ARN (small interfering RNA-*şi RNA* şi micro RNA-*miRNA*). O altă formă existentă a ARN este reprezentată de ARN viral.

ARN mesager

Este sintetizat prin procesul de *transcripţie* a ADN la nivelul nucleului, de aici fiind eliberat prin porii nucleari in citoplasmă, unde se leagă de ribozomi şi ARNt şi codifică aminoacii specifici din lanţul polipeptidic. ARN mesager este cunoscut sub numele de "molecula informaţională", codificând compuşi importanţi precum enzime, proteine, hormoni, prin procesul numit *translaţie* (Fig. 8.25).

ARNm care se ataşează de ribozomi nu este identic cu cel sintetizat în nucleu conţinând şi secvenţe care nu codifică aminoacizi numite "introni". Această formă "brută" de *ARNm* se numeşte *"pre ARNm"* iar procesul prin care aceste secvente intronice sunt îndepărtate se numeşte "splicing".

În celula eucariotă, acest process de *splicing* este catalizat de un complex ribonucleoproteic numit spliceosome (Fig. 8.26).

La celulele eucariote *ARNm* matur constă dintr-o secvenţă "cap" la capătul 5' care este necodificatoare şi începe cu guanozina, iar la capatul 3'se găseşte o secvenţă "coada" numită poli(A) care este şi ea o secvenţă netraductibilă (Fig. 8.26).

Regiunea de codificare conţine informaţii variate sub forma unor triplete numite codoni (ex: GAA, UAG, GUU, GUC etc). Codonii START şi STOP reprezintă locul unde începe şi se termină sinteza proteică. Pe lângă fenomenul de *splicing* ARNm mai poate suferi şi un proces de editare ("editing") prin care dintr-o moleculă de ARNm pot rezulta două proteine diferite dar cu rol înrudit cum este cazul apolipoproteinei B100 şi B48, prima localizată în ficat şi cealălată în intestin deşi provin din acelaşi *ARNm* (Fig. 8.27).

Există mai multe tipuri de ribozomi în celulele procariote şi eucariote, care se deosebesc între ei prin coeficientul de sedimentare la ultracentrifugare.

Structura ARN ribozomal

ARNr se găseşte combinat cu proteine (60% proteine şi 40% ARN) în agregate macromoleculare numite ribozomi ce se găsesc în citoplasma celulelor (Fig. 8.28).

Ribozomii sunt particule microscopice vizibile doar prin microscopie electronică, descoperiti de medicul roman George Palade căruia i s-a acordat Premiul Nobel în 1974. Unitatea de măsură pentru sedimentare este unitatea Svedberg (S). Celulele eucariote conţin trei tipuri de ARNr: 18S, 28S, 5, 8S şi 5S. Subunitatea 40S este alcătuită din ARNr 18S şi proteine, iar subunitatea 60S este alcătuită din ARNr 28S şi 5S (sau 5,8S în citoplasmă)(Fig. 8.28). Cele două subunităti se unesc formând ribozomul 80S locul unde are loc sinteza proteinelor. La nivelul reticulului endoplasmic, 5-8 ribozomi sunt legaţi între ei prin ARNm formând un poliribozom. ARNr de la nivelul mitocondriilor are constanta de sedimentare 55S.

Structura ARN de transfer

Funcţia principală a ARNt este aceea de a transporta şi a ceda aminoacidul activat la nivelul situsului de sinteză a proteinelor, unde este încorporat în lanţul polipeptidic. Acest proces este posibil datorită prezenţei unei secvenţe de trei baze din structura ARNt–porţiune numită anticodon ce recunoaşte secvenţa de trei baze complementare din structura ARNm (Fig. 8.29). ARNt nu conţine numai nucleotide uzuale ci şi nucleotide modificate (baze minore) cu roluri importante în funcţia ARNt. Braţul D conţine dihidrouridina (DHU) şi este responsabil de legarea aminoacidului specific.

Scanned with OKEN Scanner

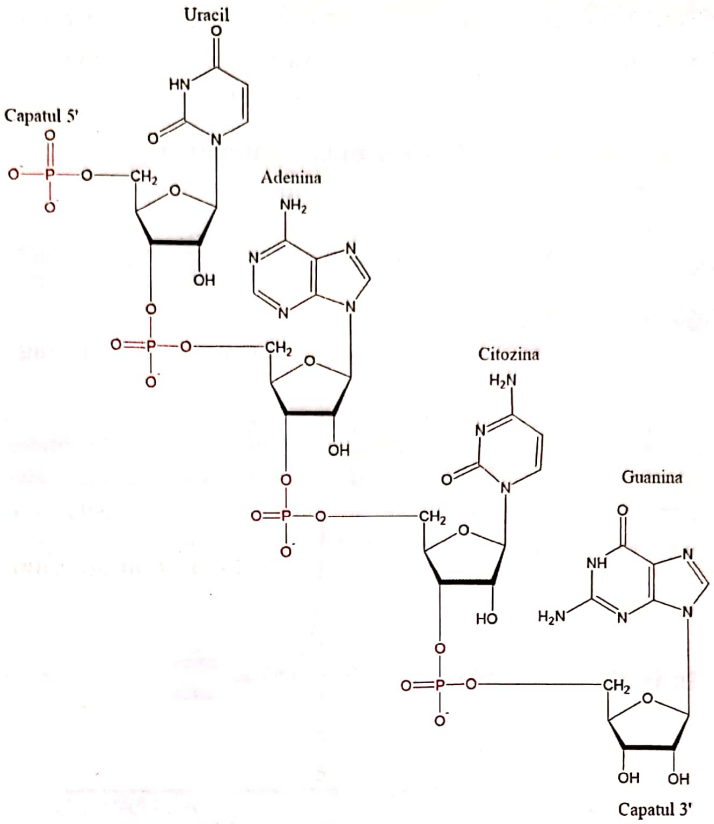


Figura 8.24. *Structura primară a ARN. Componenta glucidică din structura ARN este riboza iar bazele azotate sunt: adenina, citozina, guanina si uracilul. Ribonucleotidele sunt legate între ele prin legături 3´-5´fosfo-diesterice.*

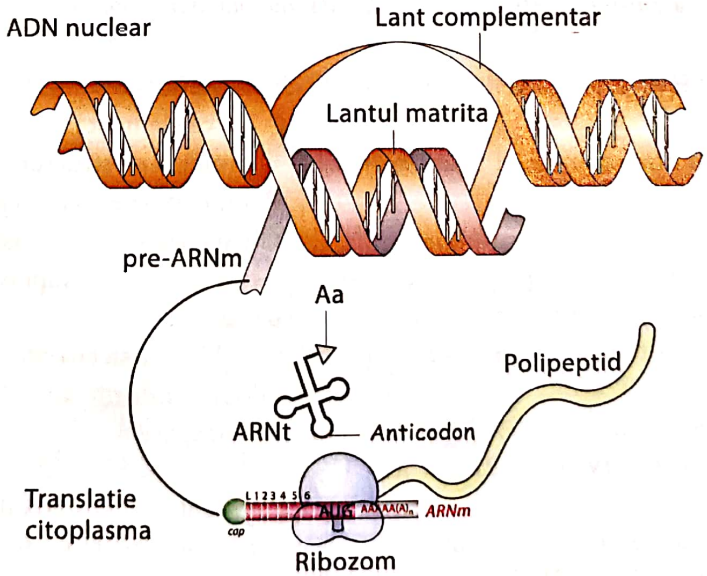


Figura 8.25. *ARN mesager codifică compuşi importanţi precum enzime, proteine, hormoni, prin procesul numit translaţie.*

Un alt exemplu este oferit de braţul TψC, care conţine osecvenţă de timina, pseudouridina (ψ)şi citozina, este responsabil de legarea la ribozom.

Capatul 5´ terminal este format din guanozină, iar capatul 3´ conţine secvenţa CCA. Aminoacidul se ataşază la gruparea hidroxil a ribozei din structura

Scanned with OKEN Scanner

adenozinei, prin legătura de tip ester la care participă cu gruparea carboxil (Fig. 8.30). Reacţia este catalizată de aminoacil-tARN sintaza.

Căile biochimice actuale de sinteza a ADN-ului actuale probabil că au evoluat din organisme care foloseau ARN ca element informaţional de stocare a informaţiei.

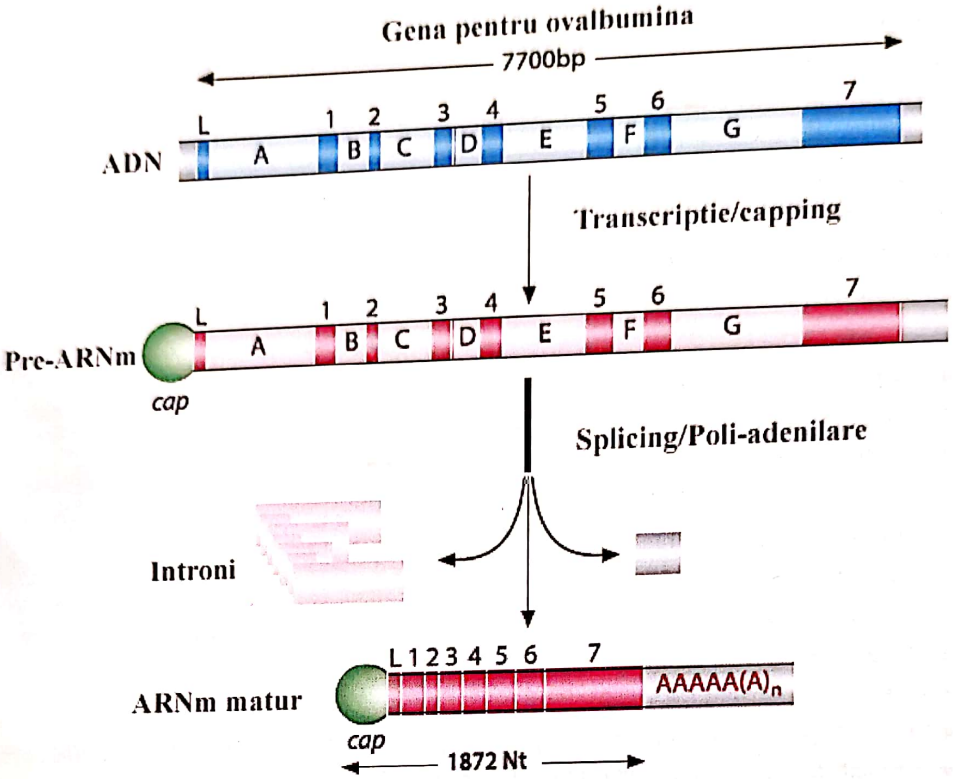


Figura 8.26. *În celula eucariotă ARNm citoplasmatic se formează din , "pre ARNm" nuclear printr-un process de splicing. La celulele eucariote ARNm matur constă dintr-o secvenţă "cap" la capatul 5' care este necodificatoare şi începe cu guanozina, iar la capatul 3' este o secvenţă "coadă" numită poli(A) cu rol de protecţie împotriva ribonucleazelor.*

Se cunosc cel puţin 21 de tipuri de ARNt, câte unul pentru fiecare aminoacid.

Se presupune că unii dintre aminoacizi sunt transportaţi de mai mult de un ARNt.

Acizii nucleici virali

Virusurile, sunt sisteme biologice la graniţa dintre viu şi „natura moartă". În funcţie de tipul de acid nucleic, distingem:

- ARN-Virusuri (conţin ARN ca element informational) denumiţi RIBOVIRUSURI sau RETROVIRUSURI
- ADN-Virusuri (conţin ADN ca element informational) denumiţi ADENOVIRUSURI

ARN-virusuri

Se presupune ca prima moleculă vie pe Terra a fost un ARN care a fost capabil să îşi catalizeze propria replicare, funcţionând şi ca enzimă.

Virusurile ARN conţin (Fig. 8.31):

1. ARN ca element informaţional;
2. O proteină de structură (GAG-Protein)
3. Polimeraza-necesară replicării- (POL-Protein)
4. Glicoproteina protectoare-de înveliş-(ENV-Protein) ce permite supravieţuirea în afara celulei gazdă.

Exemple bine caracterizate includ, Hepatita C; Virusul gripal (Influentza); HIV-SIDA (human immunodefciency virus).

"Dogma centrală" propusă de Francis Crick, postulează că informaţia se transmite de la ADN la ARN şi apoi la proteine. Adică, în mod normal se sintetizează ARN pe matriţă de ADN şi apoi informaţia se materializează prin sinteza de proteine (Fig. 8.32). Retrovirusurile, precum virusul HIV care este responsabil de apariţia bolii SIDA (Sindromul imuno

Scanned with OKEN Scanner

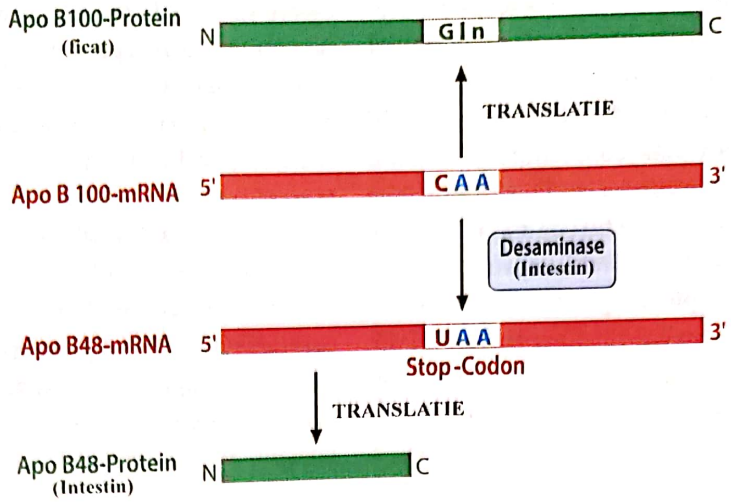


Figura 8.27. *Prin editarea ARNm pot rezulta două proteine diferite dar cu rol înrudit cum este cazul apolipoproteinei B100 și B48, prima localizată în ficat și cealălată în intestin deși provin din același ARNm. (modificat după, Petrides 2014).*

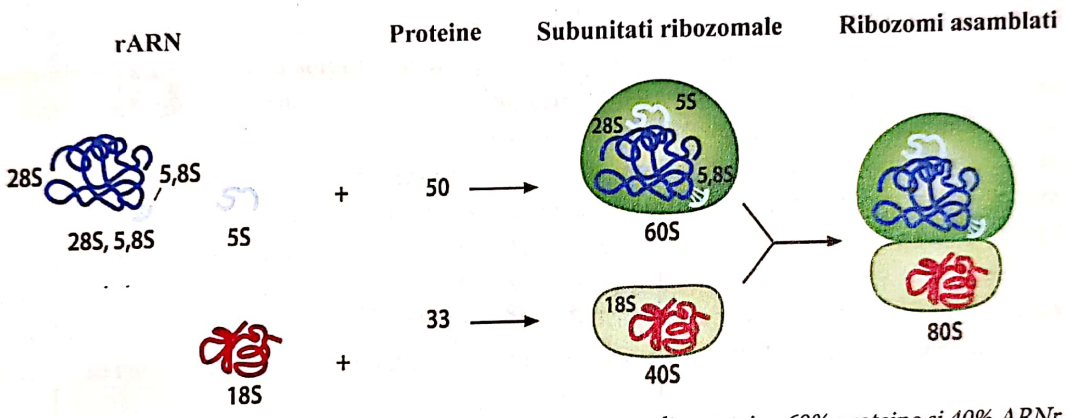


Figura 8.28. *Ribozomii sunt agregate ce se găsesc în citoplasmă, formate din proteine 60% proteine și 40% ARNr.*

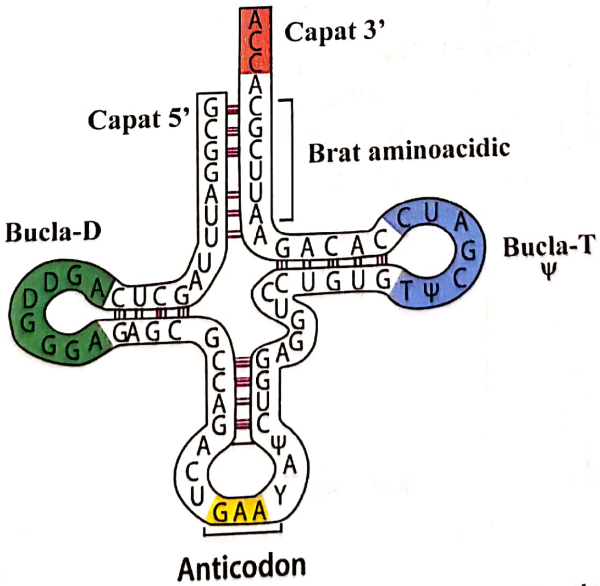


Figura 8.29. *Structura ARNt–porțiune numită anticodon ce recunoaște secvența de trei baze complementare din structura ARNm.*

Scanned with OKEN Scanner

deficienței dobândite umane), este o excepție a acestei reguli. Retrovirusurile posedă o enzimă numită reverse transcriptaza care este capabilă să sintetize ze o catenă ADN pe matriță de ARN, sfidând astfel "dogma centrala". Care sunt consecințele? Pentru a se multiplica virusul se atașează la celule (limfocitele T) prin intermediul unor structuri de atașare numite liganzi care sunt prezente la nivelul capsulei. Acestea recunosc receptorii specifici (acidul sialic pentru virusul gripal sau CD4 pentru virusul HIV), care sunt structuri normale la nivelul membranei celulare. Pentru aceasta, HIV-1 trebuie să traverseze câteva straturi de țesuturi pentr a putea veni în contact cu celula receptoare (Fig. 8.33). După ce invadează celula, ARN-ul genomic, prin fenomenul de reverse transcripție, formează o copie de ADN. Enzima este codificată de ARN-ul viral și se numește reverse transcriptaza.

Această copie ADN pe matriță ARN viral se integrează în genomul celulei gazdă și utilizează sistemul enzimatic al acesteia în vederea sintezei mai multor copii de ARN viral și proteine virale. ARN-ul și proteinele sunt apoi împachetate în noi particule virale care sunt eliberate din celula gazdă (urmată de

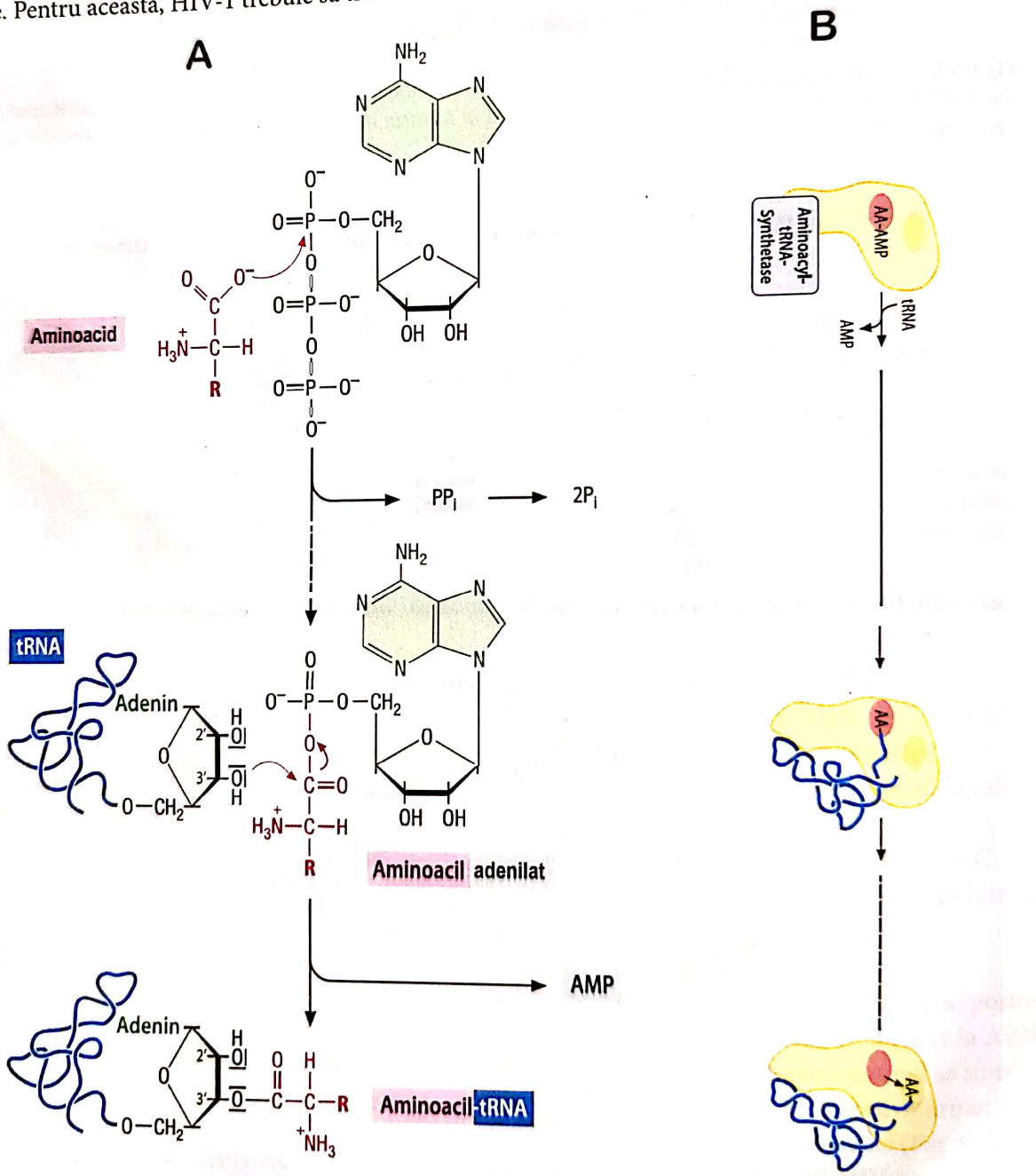


Figura 8.30. *Aminoacidul se atașază la gruparea hidroxil a ribozei din structura adenozinei, prin legătura de tip ester la care participă cu gruparea carboxil.(modificat după, Petrides 2014).*

Scanned with OKEN Scanner

moartea celulei) fiind gata să invadeze noi celule (Fig. 8.34).

Medicamente antivirale

Cum putem interveni în lupta dintre virus și organism? Strategia de multiplicare a virusurilor, folosind celula gazdă, face dificilă acțiunea terapeutică selectivă asupra acestora fără risc de toxicitate la nivelul organismului. Inhibarea multiplicării virusurilor este posibilă numai dacă se intervine asupra mecanismelor proprii virale, cum ar fi, legarea la membrana celulară, comanda sintezei proteice de către genomul propriu (sinteza acizilor nucleici și a proteinelor). De aceea mecanismul de inhibare a sintezei acizilor nucleici și sau/a sintezei proteice proprii care este eficace pentru majoritatea antiviroticelor, va interfera cu sinteza endogenă de ADN și proteine, mai ales în cazul hematopoiezei și la nivelul intestinului subțire. Ce diferă de la o etapă la alta în terapiile virale sunt strategiile și soluțiile tehnice de a crea noi medicamente antivirale.

În general, terapiile medicamentoase se bazează pe constanta structurilor țintă. În cazul retrovirusurilor problema majoră cu care se confruntă aceste terapii este variabilitatea acestor virusuri cauzată de mutațiile frecvente în genomul lor astfel că de fapt terapia antivirală se confruntă și cu o populație diversă de virusi HIVsau *Influenza (virusul gripal)*. De exemplu, la virusul HIV s-a observat o variabilitate de 40% în secvența genelor care codifică învelisul particulei virale (env) și o variabilitate de 8-10% în polimerazei (pol) și antigenul de suprafață (gag). Aceste mutații frecvente duc la modificări structurale în țintele terapeutice și de aceea sunt cauza rezistenței la medicamente care sunt folosite un timp mai îndelungat. Din aceste motive, terapiile virale moderne abordează o *combinație de medicamente* cu ținte terapeutice diferite.

1. Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici

Sunt în general, analogi structurali ai nucleotidelor care încorporate în cursul sintezei acizilor nucleici determinând inhibiția acestui proces. De exemplu compusul folosit în terapia HIV este AZT (ZDV)-zidovudina. Acesta este un analog structural al dezoxitimidinei, care este fosforilată în organism la trifosfatul corespunzator (AZT-TP), cu afinitate mare pentru reverstranscriptaza (Fig. 8.35). Aceasta este încorporată în structura ADN copie și blochează adăugarea de noi nucleotide, împiedicând astfel replicarea virală. Un alt inhibitor folosit în terapia HIV este ritonavirul care formează un complex ireversibil cu proteaza virusului HIV (Fig. 8.36). Ritonavirul este un exemplu de medicament dezvoltat pe baza modelării structurii complexului

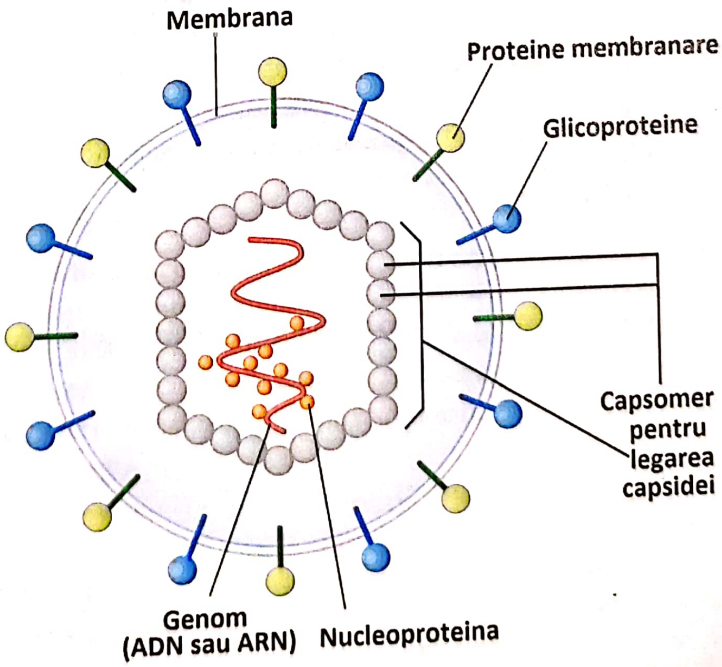


Figura 8.31. *Virusurile ARN conțin (i) ARN ca element informațional; (ii) o proteină de structură (GAG); (iii) polimeraza-necesară replicării- (POL); (iv) glicoproteina protectoare-de înveliș (ENV).*

Scanned with OKEN Scanner

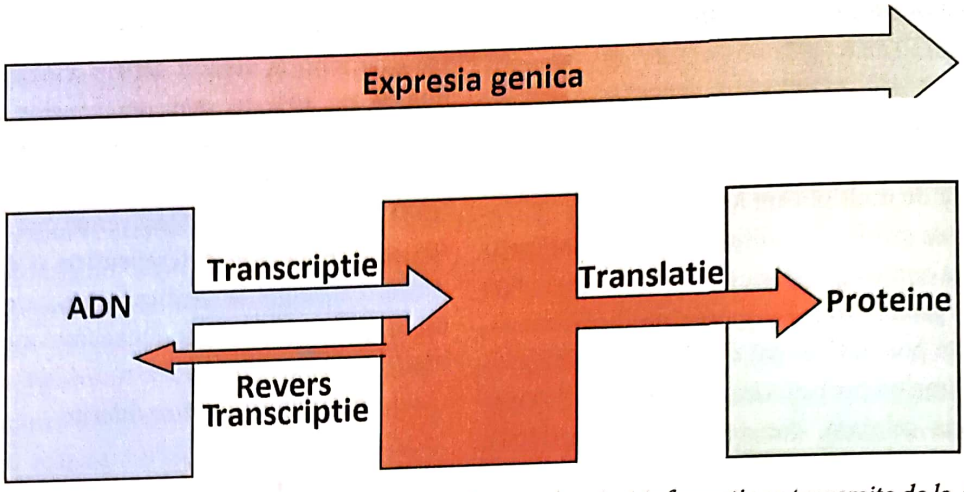


Figura 8.32. *Dogma centrala" propusă de Francis Crick, postulează că informaţia se transmite de la ADN la ARN şi apoi la proteine.*

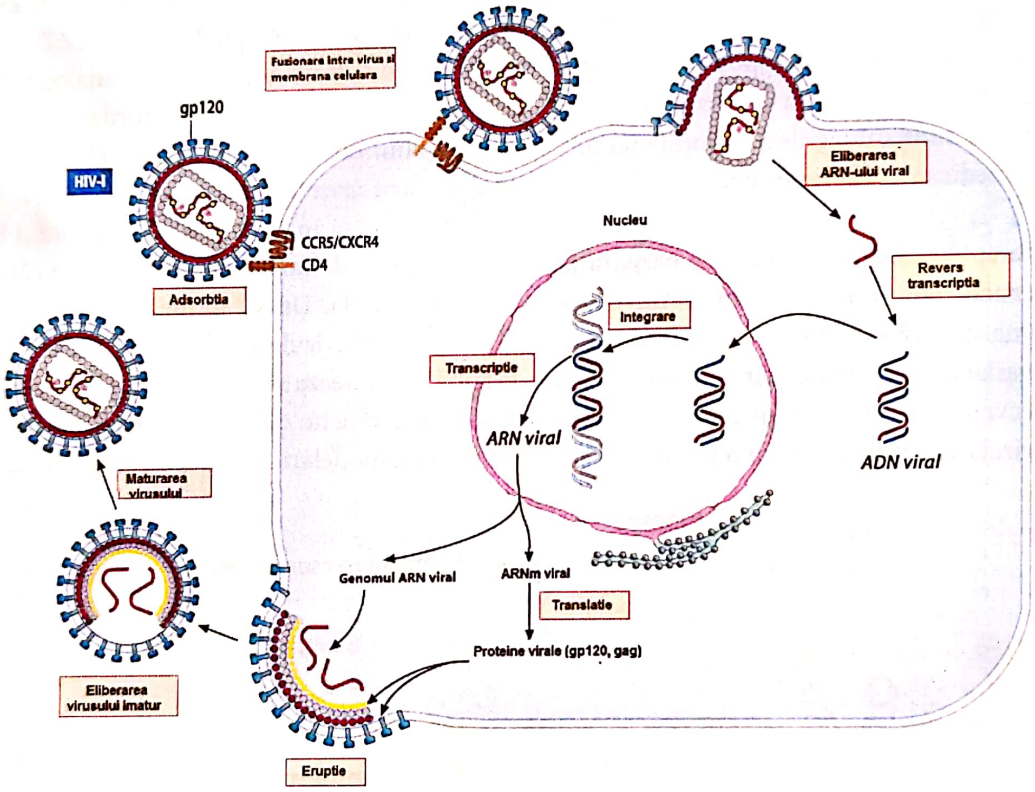


Figura 8.33. *Barierele tisulare urmate de HIV de la transmisie până la infecţia celulei receptoare.*

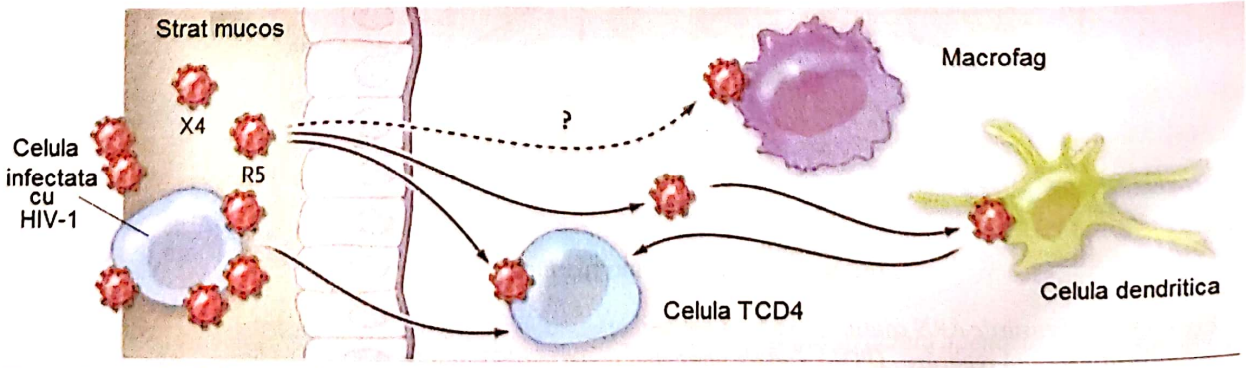


Figura 8.34. *Ciclul de viaţă al unui retrovirus.*

Scanned with OKEN Scanner

enzimă-inhibitor şi sintezei raţionale a unui compus care să umplă cât mai exact, spaţiul creat de situsul de legare al enzimei. Sinteza de inhibitori în urma modelării tridimensionale este cea mai eficientă abordare de sinteză în scop terapeutic din medicina experimentală de tip farmaceutic.

Alte exemple de medicamente antivirale sunt:

1. *Aciclovirul*– inhibă selectiv replicarea ADN a virusului herpetic.
   După captarea în celula este fosforilat la aciclo-GTP, analog nucleotidic ce inhibă ADN-polimeraza şi se încorporează în ADN, împiedicând alungirea lantului prin adăugarea de noi nucleotide (Fig. 8.37).
2. *Ganciclovirul* – este un analog al 2-dezoxiguanozinei (Fig. 9.37), care inhibă replicarea virusului citomegalic acţionând printr-un mecanism asemănător cu cel al aciclovirului (Fig. 8.37).

Sinteza acidului dezoxiribonucleic, ADN

Trei mari procese sunt necesare pentru transmiterea şi asigurarea fidelităţii informaţiei genetice: *replicarea*, *repararea* şi *recombinarea*. Sinteza ADN are loc printr-un proces numit replicare. Acest proces trebuie să se defaşoare cu acurateţe, astfel încât să asigure conservarea codului genetic. De aceea *erorile care apar în timpul replicării trebuie reparate.* Recombinarea genomului asigură variabilitatea indivizilor unei specii şi poate să crească rata de supravieţuire prin mutaţii care conferă un avantaj de supravieţuire într-un context ecologic particular. Schimbările genetice au loc prin mecanismul de recombinare.

Replicarea este procesul prin care cele două lanţuri parentale servesc drept matriţă pentru sinteza catenei complementare. Astfel încât fiecare dintre moleculele de ADN generate după replicare vor fi alcătuite dintr-o catenă veche (parentală) şi o catenă nouă sintetizată prin complementaritate (Fig. 8.38).

Locul unde este iniţiată replicarea se numeşte "furca de replicare" la acest nivel acţionând un sistem complex de enzime, *helicazele* şi *topoizomerazele* enzime care desfac catena de ADN înaintea furcii de replicare, aceste catene fiind împiedicate să refacă, structura helicoidală compactă prin ataşarea unor proteine de stabilizare a ADN monocatenar (Fig. 8.38). Enzima majoră implicată în replicarea ADN este *ADN polimeraza* care copiază catena primară (matrice) cu direcţia 3'→5', în direcţia 5'→3'. Pentru aceasta sunt necesare"cărămizile" de bază (*dezoxiribonucleotid trifosfaţii*) şi o secvenţă de ribonucleotide (ARN) numită *ARN primer* care să iniţieze sinteza prin legarea la catenele parentale şi oferirea capătului 3'-OH liber (Fig. 8.39).

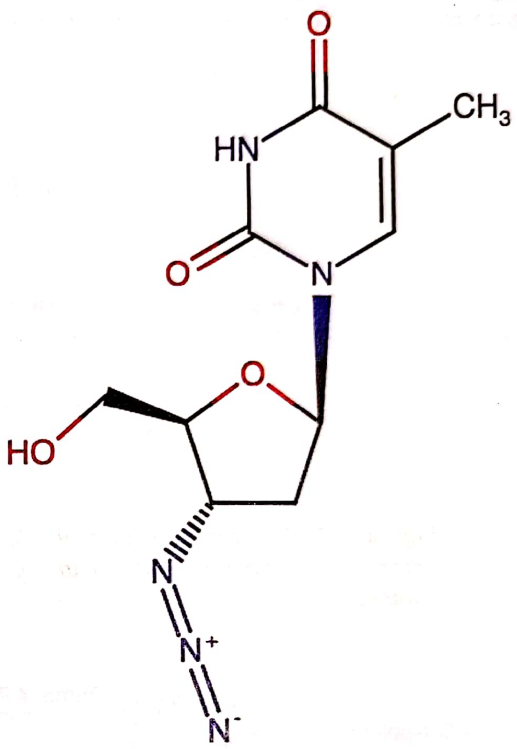


Figura 8.35 *Un compus folosit în terapia HIV este AZT (ZDV)-zidovudina. Acesta este un analog structural al dezoxitimidinei, care este fosforilat în organism la trifosfatul corespunzator (AZT-TP) cu afinitate mare pentru reverse transcriptaza.*

Primerul ARN este sintetizat de o enzimă specifică, *ADN primaza*. În faza următoare, ADN-polimeraza ataşează dezoxiribonucleotidele la capătul 3' al primerului ARN, acesta fiind în final îndepărtat şi înlocuit de dezoxiribonucleotide (Fig. 8.40).

O catenă este sintetizată continuu "leading strand", pe care o denumim catena primară iar cealaltă este sintetizată în fragmente (*fragmente Okazaki*) "lagging strand" pe care o denumim secundară, ce sunt apoi unite de *ADN ligaza* (Fig. 8.41).

Scanned with OKEN Scanner

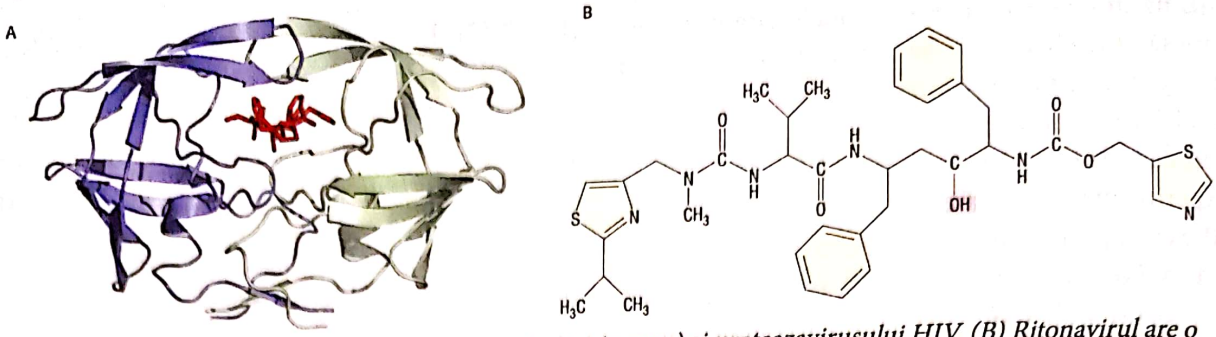


Figura 8.36. *(A) Complexul realizat intreritonavir (arătat în roşu) şi proteazavirusului HIV. (B) Ritonavirul are o grupare OH (marcată în roşu) care se leagă la un rest de aspartat din centrul activ al enzimei.*

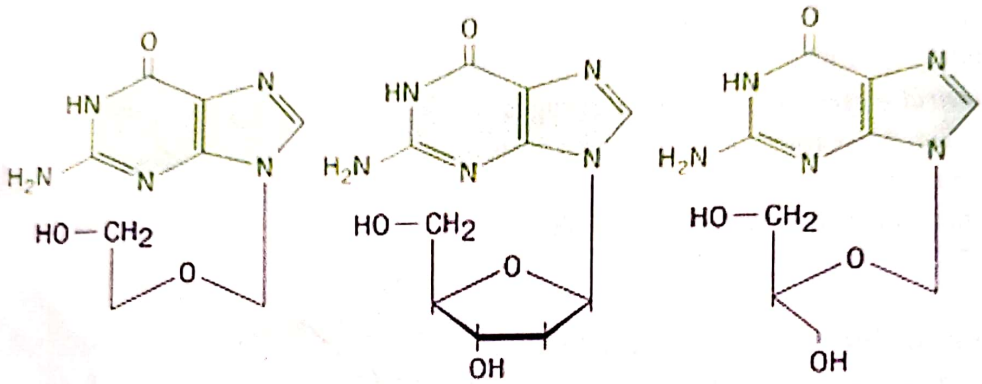


Figura 8.37. *Medicamente antivirale. Aciclovirul– inhibă selectiv replicarea ADN a virusului herpetic. Ganciclovirul – este un analog al 2-dezoxiguanozinei care inhibă replicarea virusului citomegalic.*

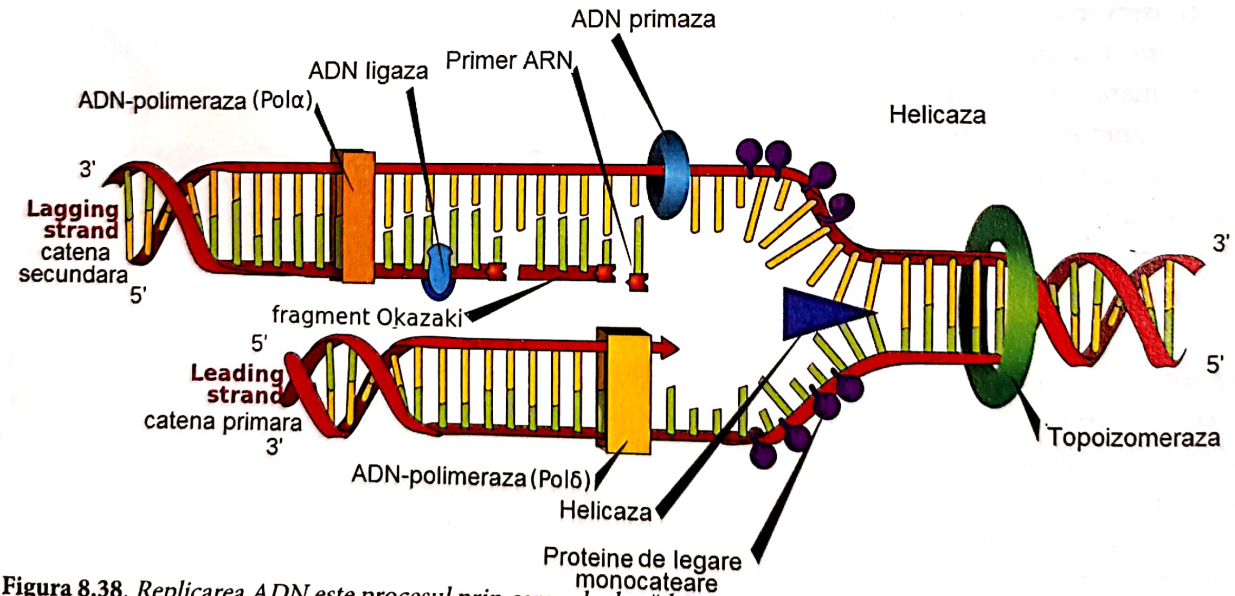


Figura 8.38. *Replicarea ADN este procesul prin care cele două lanţuri parentale servesc drept matriţă pentru sinteza catenei complementare (pentru detalii, vezi text).*

Telomerii şi telomeraza

Atunci când replicarea se apropie de finalul catenei, o problemă care apare este rămânerea în urma a catenei, deoarece primazele (enzime care sintetizează primerul) nu îşi pot exercita funcţia până la capătul catenei de ADN (matriţă) datorită faptului că la sfârşitul replicării, primerul de la capătul final este îndepărtat şi prin urmare ADN polimeraza în lipsa primerului de ARN, este blocată. Rezultatul ar fi un cromozom mai scurt la capătul 3' (Fig. 8.42).

Scanned with OKEN Scanner

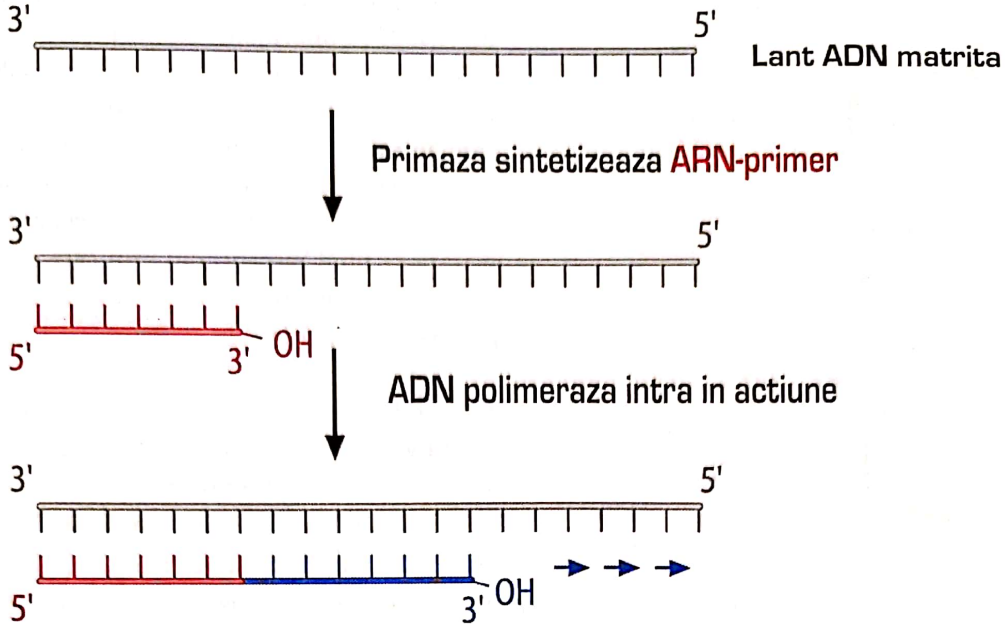


Figura 8.39. *ADN polimeraza încorporează deoxinucleotide pe baza complementarității în lanțul de ADN în direcția 5'...3' cu eliberare de pirofosfat.*

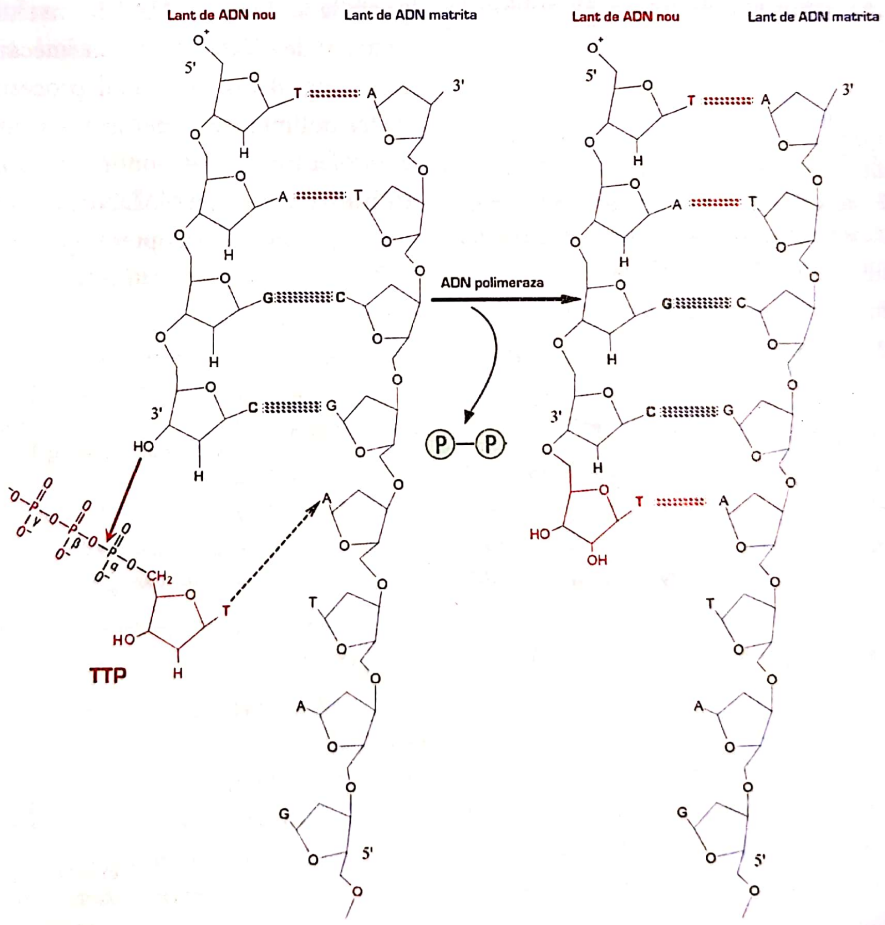


Figura 8.40. *Mecanismul detailat de acțiune al ADN polimerazei care realizează sinteza de ADN în timpul replicării materialului genetic din nucleu.*

Scanned with OKEN Scanner

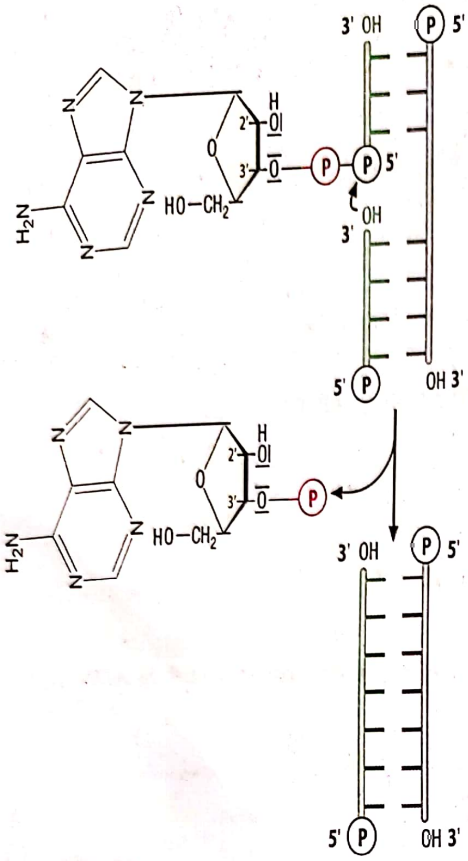


Figura 8.41. *În timpul replicării ADN, o catenă este sintetizată continuu "leading strand", pe care o denumim catena primară, iar cealaltă este sintetizată în fragmente (fragmente Okazaki) "lagging strand" pe care o denumim secundară, ce sunt apoi unite de ADN ligaza.*

Se ridică întrebarea cum rezolvă celula pierderea inevitabilă de informației dacă la fiecare replicare rezultatul este un cromozom din ce în ce mai scurt? La aceasta întrebare au răspuns un grup de cercetători care au primit Premiul Nobel pentru Medicină în 2009. Aceștia sunt: *Elizabeth Blackburn, Carol Greider și Jack Szostack.* Ei au descris telomerii și telomeraza ca fiind mecanismul prin care cromozomii pot fi copiați integral la sfârșitul diviziunii celulare și protejați de degradare.

Telomerii (*telos-sfârșit și melos-parte*) sunt secvențe repetitive de ADN aranjate în tandem, TTAGGG în catena primara("leading strand") și CCCTAA în catena secundara("lagging strand") care se găsesc la capătul terminal al cromozomilor.

Aceste secvențe repetitive nu pot fi copiate de către ADN-polimeraza, acest lucru însemnând scurtarea cromozomilor, ceea ce în realitate nu se întâmplă.

Existența telomerazei, o *reverse transcriptază*, face posibilă sinteza de ADN la nivelul telomerilor, pe matriță de ARN printr-un mecanism deja clarificat (Fig. 8.43). În cursul procesului de replicare ADN-polimeraza necesită un primer de tip ARN care oferă un capăt donor 3-hidroxi necesar pentru inițierea replicării ADN. Dar acest mecanism va cauza probleme la copierea porțiunii terminale de ADN pentru că *primerul tip ARN va disocia* în

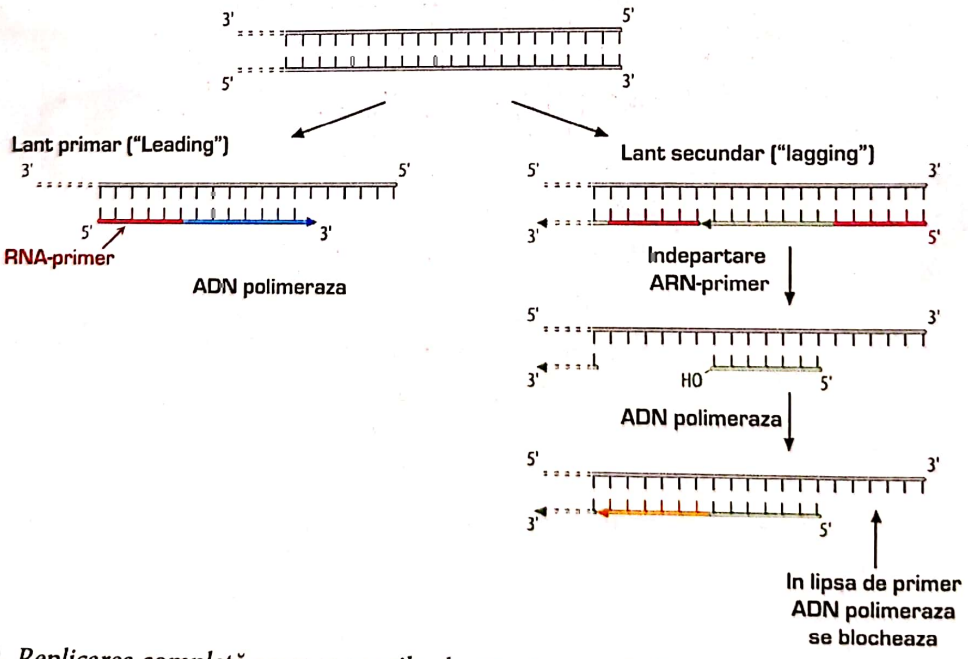


Figura 8.42. *Replicarea completă a cromozomilor la capete se explică prin existență telomerazei care este o reverse transcriptază. Telomeraza (TERT) adaugă catalitic prin enzima reverse transcriptaza a telomerazei secvențe hexamerice repetitive de nucleotide TTAGGG la capătul 3'-hidroxil al catenei telomerice lider, folosind o secvență specifică de ARN ca matriță.*

Scanned with OKEN Scanner

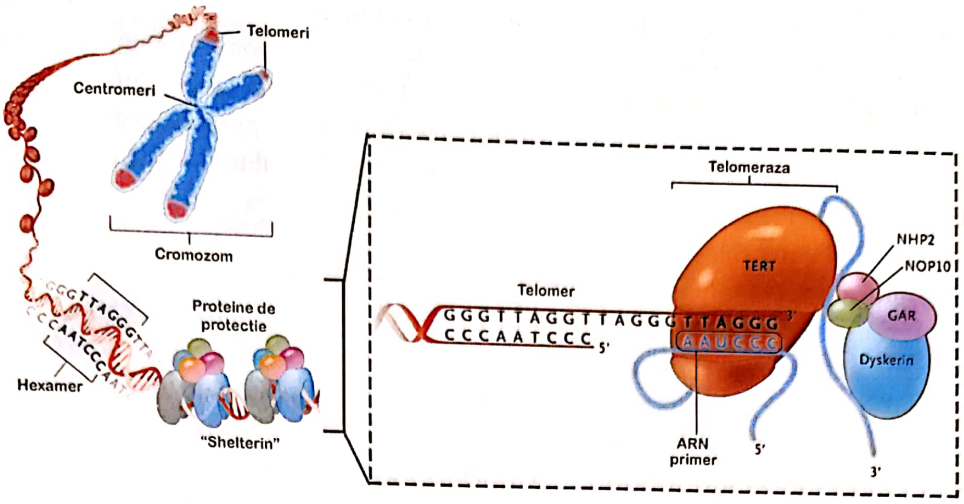


Figura 8.43. *Telomerii sunt elemente repetititive localizate la capătul cromozomilor unde sunt protejate de proteine de protecţie asociate ADN-ului telomerilor sunt denumite colectiv shelterin (TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPP1, şi Rap1). Sunt arătate, componenta ARN, proteina diskerin, şi alte proteine asociate (NHP2, NOP10, şi GAR1). Telomeraza (TERT) adaugă catalitic prin enzima reverse transcriptaza a telomerazei secvenţe hexamerice repetitive de nucleotide TTAGGG la capătul 3'-hidroxil al catenei telomerice lider, folosind o secvenţă specifică de ARN ca matriţă.*

timp ce ADN polimeraza se deplasează de-a lungul secvenţei matriţă, lasând un gol la capetele cromozomilor.

Astfel ADN-ul nou sintetizat este, teoretic, mai scurt decât secvenţa matriţă. Telomerii şi telomerazele rezolvă această problemă.Telomerii sunt compuşi din secvenţe repetitive de ADN dispuse la capătul terminal al cromozomilor protejate de un grup de proteine denumite "*shelterin*". O secvenţă monocatenară este generată prin adiţia catalitică a telomerazei la capătul 3' şi prelucrarea postreplicativă a componentelor rămase în urmă. Proteinele shelterin care acoperă secvenţa de ADN telomeric, servesc drept semnal molecular pentru a preveni complexul implicat în repararea ADN, să nu confunde telomerii cu goluri de ADN-dublucatenar.

Patobiochimie

Defecte ale telomerazei afectează replicarea şi scurteză durata de viaţă a şoarecilor transgenici cărora le lipseşte telomeraza. În plus, în anumite condiţii, lungimea telomerilor reprezintă „ceasul mitotic" pentru istoria proliferativă a unei celule, iar pierderea telomerilor este determinată de afectarea ADN de către speciile reactive de oxigen, care se acumulează în timp. Proteinele eliberate din celulele disfuncţionale datorită scurtării telomerilor ar putea fi biomarkeri ai procesului de îmbătrânire şi bolilor degenerative. De aceea se presupune că scurtarea telomerilor în timp reprezintă una din cauzele îmbătrânirii. Când telomerii se scurtează în mod critic, celula devine senescentă, încetează să se mai dividă sau suferă apoptoză, moare. Acest proces explică întreruperea proliferării celulare în culturile de celule, sau limita Hayflick. Acest proces explică întreruperea proliferării celulare în culturile de celule sau limita Hayflick. Dacă mecanismele protective, cum ar fi gena represoare tp53 sunt inactive, favorizând proliferarea în continuare, telomerii devin extrem de scurţi şi disfuncţionali, generând instabilitate cromozomială. În schimb celulele cu o activitate anormal de mare a telomerazei pot prolifera timp indefinit şi cauza cancer.

Telomerii sunt implicaţi într-o boală genetică rară a măduvei osoase determinată de mutaţii la nivelul genei *DKC1* care codifică o proteină a complexului telomeric.

Scurtarea telomerilor se asociază cu diferite forme de *anemie aplastică* ereditare sau dobândite. În aceste forme de anemie aplastică au fost evidenţiate şi mutaţii ale telomerazei. Mutaţiile telomerazei sunt asociate şi cu *fibroza pulmonară şi hepatică*. Gena ce codifică sinteza telomerazei prezintă un locus susceptibil pentru cancerzare, iar scurtarea telomerilor ar putea reprezenta un factor de risc pentru bolile

Scanned with OKEN Scanner

cardio-vasculare. Întelegerea rolului telomerilor are implicaţii importante în diagnosticul, tratamentul şi sfatul genetic al diferitelor boli cu etiologie neclarificată.

Medicamente folosite în terapia cancerului

Inhibitori ai sintezei de ADN pot fi folosite în terapia cancerului. Unele antibiotice pot inhiba replicarea ADN-ului şi de aceea s-au dovedit a fi extrem de utile în clarificarea mecanismelor moleculare are replicării. În plus, aceşti inhibitori pot fi folosiţi în terapia cancerului care se caracterizează în primul rând pe o replicare necontrolată a celulei canceroase indiferent de mecanismul care a dus la fenotipul canceros.

Mitomicina

Mitomicina (Fig. 8.44) se intercalează între cele 2 lanţuri de ADN şi formează legături covalente. Drept urmare, cele 2 lanţuri de ADN nu se mai pot separa în vederea replicării. Deoarece acest mecanism de acţiune este universal, mitomicina este folosită în terapia cancerului. Analog cu mitomicina, acţionează un alt medicament folosit în terapia cancerului, *Cisplatina* care se intercalează între cele 2 lanţuri de ADN formând un complex stabil (Fig. 8.45).

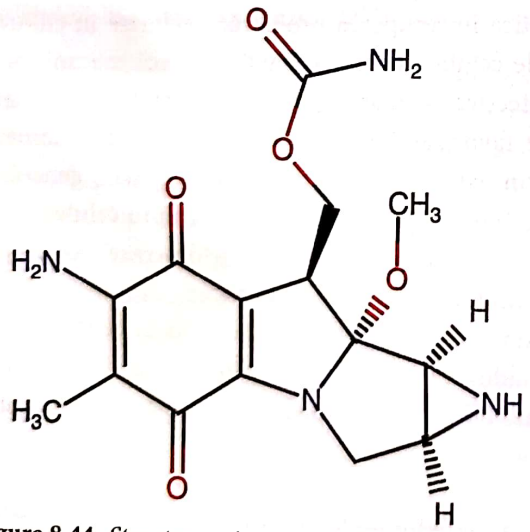


Figura 8.44. *Structura mitomicinei, folosită în tratamentul unor cancere.*

Actinomicina D

Actinomicina (Fig. 8.46) are o activitate inhibitorie dual: în concentraţii mici inhibă sinteza de ARN iar în concentraţii mari inhibă replicarea ADN-lui prin formarea de complexe covalente cu bazele GC.

Analog cu mitomicina, separarea celor 2 lanţuri de ADN nu mai poate avea loc. Actinomicina D este folosită ocazional în terapia cancerului şi în medicina experimentală în special pentru a distinge între efect asupra replicării ADN-ului sau efect inhibitor la nivel transcripţional.

Inhibitori de topoizomeraze

Există o serie întreagă de substante chimice, cum ar fi derivate de *cumarina* sau *ciprofloxacina* (Fig. 8.47) care se folosesc ca inhibitori de topoizomeraza bacteriană (giraza). Ciprofloxacina este un medicament actual folosită pentru combaterea eficientă a infecţiilor bacteriene. Inhibitorii de giraze împiedică replicarea ADN-lui în stadii incipiente deoarece ADN giraza este necesară pentru relaxarea structurii de ADN în vederea separării celor 2 lanţuri.

Inhibitorii de topoizomeraze care acţionează la nivel de eucariote, deci şi organismul uman, se folosesc curent în terapia cancerului. Dintre acestea menţionăm *doxorubicin* sau (Fig. 8.48) stabilizează contactele dintre lanţul de ADN şi topoizomeraza ceea ce cauzează întreruperi în lanţul de ADN şi stopează, prin urmare, activitatea ADN polimerazei.

Analogi de baze azotate ca medicamente în medicină

Pot de asemenea fi folositi pentru stoparea replicării ADN prin încorporarea în lanţul de ADN nou sintetizat. Deoarece analogia nu este perfectă, ADN polimeraza nu va recunoaşte analogul şi sinteza de ADN este stopată. Ca exemplu menţionăm *citarabina* (Fig. 8.48), care în locul ribozei conţine un rest de arabinoza. Citarabina este folosită în special în terapia virusului SIDA.

Alte exemple de medicamente antivirale actuale pentru medicaţia anti-SIDA sunt azidotimidina (Fig. 8.49) şi zidovudina (Fig. 8.50), care au structuri foarte asemănătoare, o grupare hidroxil de la riboza fiind înlocuită cu o grupare azidică (N3).

Repararea ADN

Repararea greşelilor de copiere din timpul replicării ADN

Modificări în compoziţia şi structura bazelor care formează ADN-ul din celulele corpului uman s-au dovedit a fi un factor de risc major pentru sănătatea

Scanned with OKEN Scanner

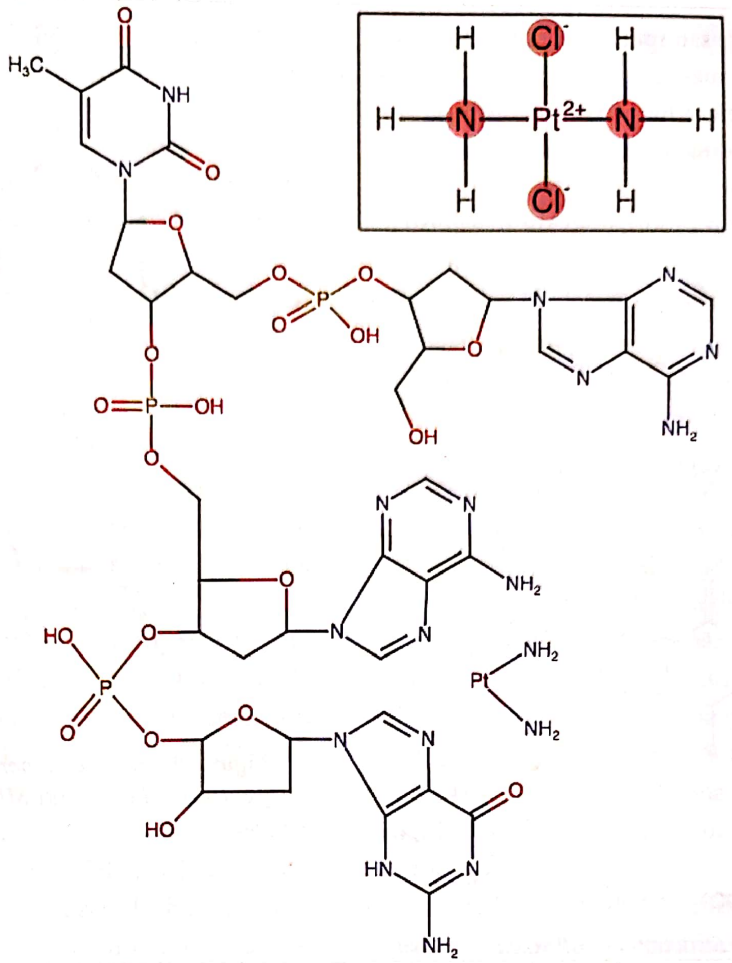


Figura 8.45. *Structura cisplatinei, folosită în tratamentul cancerului.*

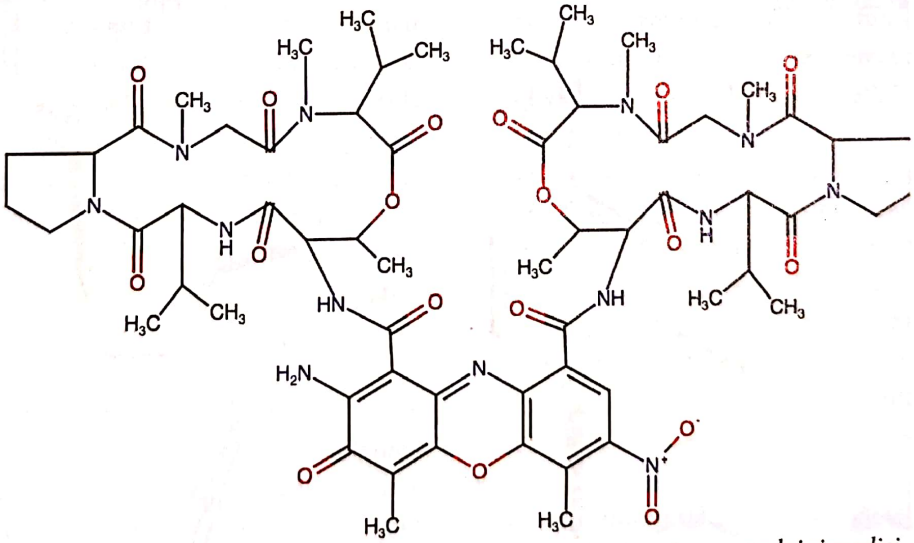


Figura 8.46. *Structura actinomicinei D folosită ocazional în terapia cancerului şi medicina experimentală.*

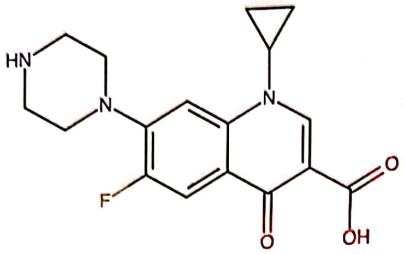
individului, fiind asociate cu cancerul şi îmbătrânirea.

Orice proces de copiere biologic care se bazează pe complementaritatea spaţială a două structuri este supus, din considerente termodinamice, greşelilor.

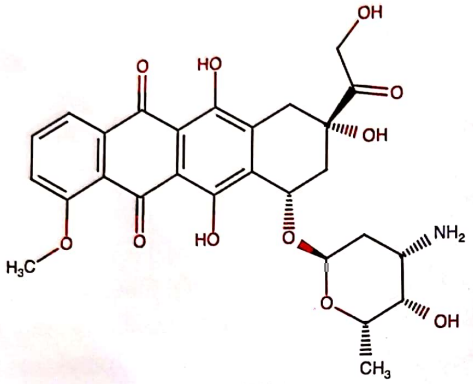
Al doilea factor major care contribuie la modificări în compoziţia şi structura bazelor din ADN este chiar propriul metabolism care generează pe lângă energie şi substanţe utile şi produşi nocivi cum ar fi radicali de oxigen şi azot liberi, lipide peroxidate,

Scanned with OKEN Scanner

agenți de alchilare sau specii carbonil extrem de reactive. În plus, mediul în care trăim ne expune la radiații ultraviolete și numeroase chimicale care pot deveni nocive în contact cu structurile interne ale



CIPROFLOXACINA



DOXORUBICINA

Figura 8.47. *(A) Structura ciprofloxacinei, folosită pentru combaterea eficientă a infecțiilor bacteriene. (B) Structura doxorubicinei, folosită în tratamentul cancerului.*

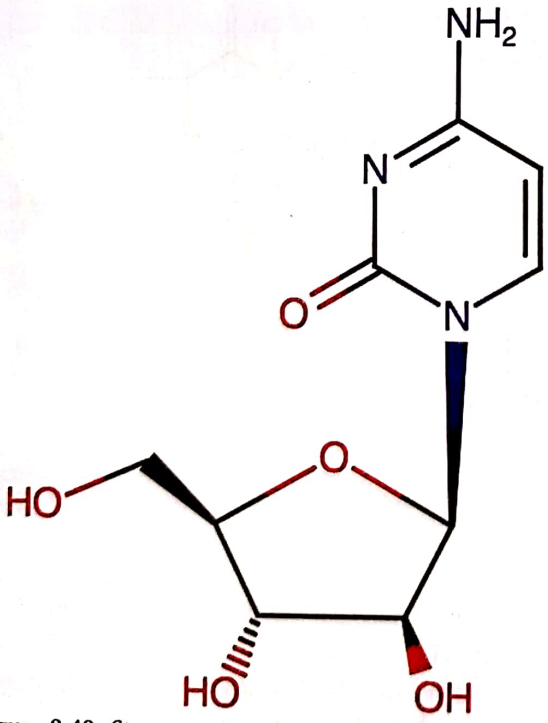


Figura 8.48. *Structura citarabinei, folosită în tratamentul SIDA.*

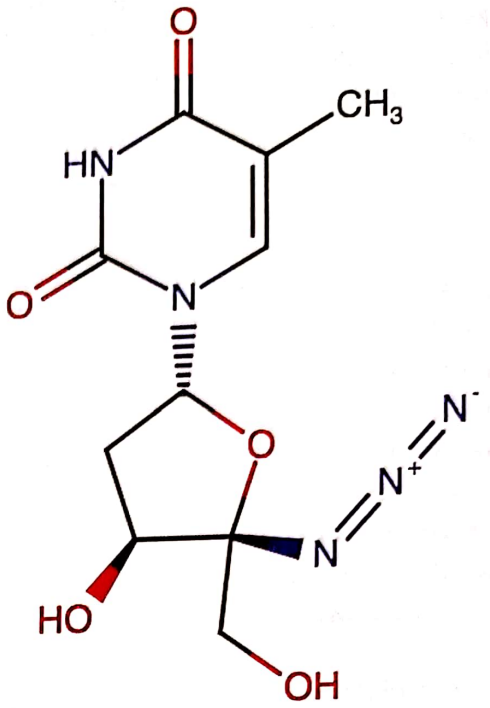


Figura 8.49. *Medicamente antivirale actuale pentru medicația anti-SIDA sunt azidotimidina.*

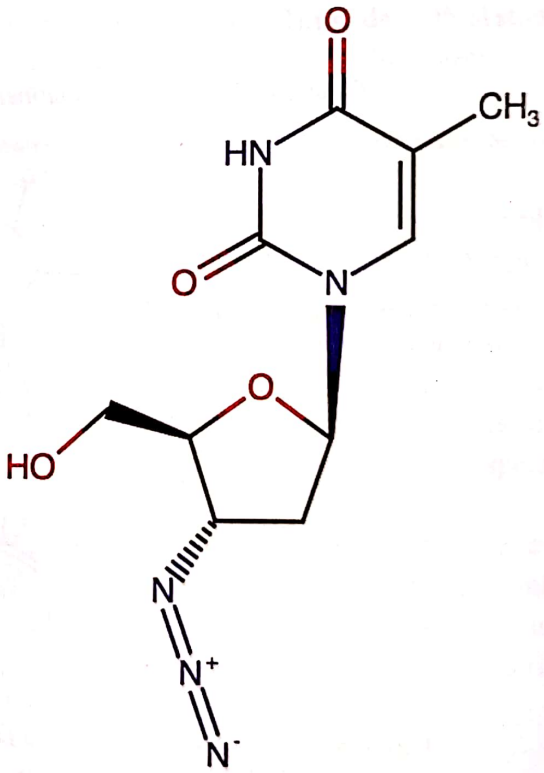


Figura 8.50. *Structura zidovudinei, folosită în tratamentul SIDA.*

organismului uman (Fig. 9.50 b).

Frecvența greșelilor care apar în timpul replicării ADN este extraordinar de mică, 1:10^7.

Scanned with OKEN Scanner

Majoritatea greșelilor care apar în timpul procesului de copiere de către ADN polimeraza sunt corectate imediat datorită activității exonucleazice a ADN polimerazei care îndepărtearză bazele încorporate în direcția 3`→5´, denumită "proof reading" (Fig. 8.51). Datorită acestei corecturi suplimentare frecvența de eroare este redusă la $1:10^8$.
Greșeli de copiere înseamnă modificări în compoziția de baze și implicit modificări în codul genetic cu consecințe imprevizibile asupra structurii proteinelor.

Repararea secvențelor de încorporare eronată

Se mai numește și "mismatch repair" și este un sistem de recunoaștere și reparare a bazelor încorporate greșit în timpul replicăriii sau recombinării ADN (în timpul mitozei). Exemple de "mismatch repair" include perechile de baze G/T și A/C . Greșelile de împerechere de datorează de regulă tautomerizării bazelor în timpul divizinii unei celule, faza G2.

Defectul de împerechere este recunoscut de către două complexe de proteine, MSH și MLH care recunosc *defectul geometric* cauzat de bazele greșit încorporate și le îndepărtează împreună cu mai multe nucleotide învecinate (Fig. 8.52).

Unele "greșeli" pot fi benefice, altele pot fi neutre dar unele pot fi și nefavorabile pentru viață unei celule. Din acest motivprocesul prin care se repară greșelile ce apar în cursul sintezei de ADN, este vital pentru asigurarea transmiterii exacte a informației genetice și functionării normale a celulei. Mutațiile pot să apară în urma mai multor procese și interacții de natură fizică și chimică între ADN și mediul exterior (Fig. 8.51).

În cele ce urmează le vom prezenta pe scurt.

1. Mutatii neenzimatice cauzate de *dezaminarea* bazelor azotate. Prin dezaminare citozina este transformată în uracil, baza care nu apare în mod normal în structura ADN și care poate să formeze legături de hidrogen cu adenina în locul legăturii normale dintre citozina și guanina. În mod normal, uracilul este îndepărtat de mecanismele de reparare și este înlocuit cu citozina prin mecanismul de reparare bazat pe excizia bazelor (Fig. 8.53).
2. Mutații neenzimatice cauzate de *depurinarea* spontană a unor baze azotate cum ar fi îndepărtarea guanozinei din lanțul de ADN. Astfel de procese hidrolitice au loc în mod normal la temperatura corpului la nivelul legăturii N-glicozidice dintre deoxiriboza și baza purinică (Fig. 8.54).
3. Radiațiile UV determină schimbări în structura și compoziția ADN prin formarea dimerilor de timină. Expunerea la radiații ultraviolete poate duce la deteriorarea ADN-ului în celulele epidermice. Absorbția luminii cu energie ridicată duce la formarea dimerilor pirimidinici și anume dimeri ciclobutan-pirimidinici și fotocompuși pirimidin-6-4-pirimidonă (Fig. 8.55). În acest caz, secvența deteriorată este recunoscută datorită schimbării de conformație în structura ADN de către un complex proteic, UvrABC. În etapa următoare golul din lanțul de ADN este umplut de ADN polimeraza.
   Procesul de reparare este finalizat de ADN ligaza care închide lanțul prin condensare la legătura fosfodiesterică (Fig. 8.56) .
4. Compuși chimici ce determină mutații la nivelul ADN. Unii agenți chimici pot cauza modificări la nivel de cod genetic adică pot cauza mutații și de aceea se mai numesc și agenți mutageni.Un exemplu clasic este fumul de țigară care conține agenți mutageni precum benzo[a] pirenul, o hidrocarbură aromatică policiclică. Benzo[a]pirenul ajuns în organism este oxidat și apoi legat covalent la resturile de guanină din structura ADN, alterând organizarea acestuia prin împiedicarea formării legăturilor de hidrogen între bazele pereche, G-C (Fig. 8.57). Alți compuși cu potențial mutagen sunt precursori ai acidului nitric (nitrat de sodiu, nitrit de sodiu, nitrozamina) sau agenții alchilanți cum ar fi melfalanul, clorambucilul sau ciclofosfamida.

Similar cu repararea dimerilor de timină, mecanismele de reparare a defectelor cauzate de agenți chimici mutageni se bazează pe recunoașterea regiunii în care helixul este modificat și pe îndepărtarea acestor regiuni de către endo și exonucleaze. Locul vacant rezultat este reparat de către ADN polimeraza. Unele mutații care nu pot fi reparate sunt fără consecințe, dar altele pot determina apariția cancerului prin multiplicare celulară anormală.

Scanned with OKEN Scanner

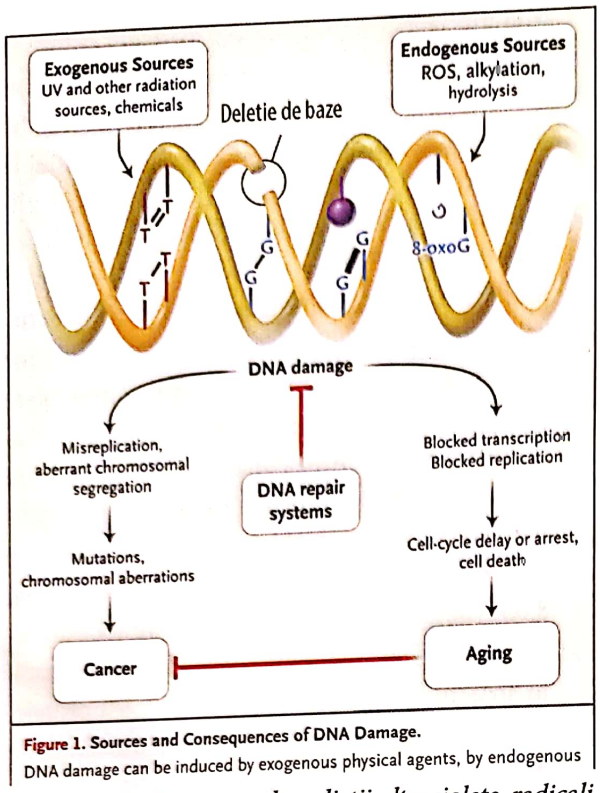


Figure 1. Sources and Consequences of DNA Damage.
DNA damage can be induced by exogenous physical agents, by endogenous

Figura 8.50 b *Expunerea la radiații ultraviolete, radicali de oxigen, agenți de alchilare poate determina modificări în compoziția bazelor ADN.*

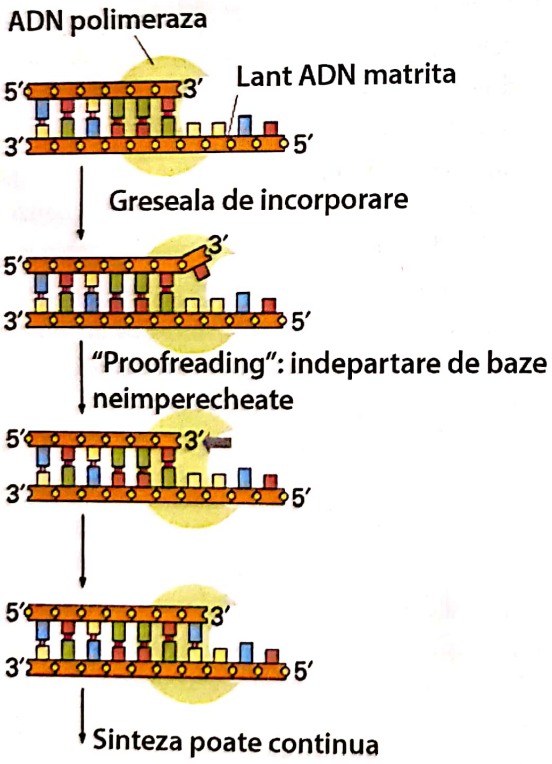


Figura 8.51. *Majoritatea greșelilor care apar în timpul procesului de copiere de către ADN polimeraza sunt corectate imediat datorită activității exonucleazice a ADN polimerazei care îndepărtează bazele încorporate în direcția 3'→5', denumită "proof reading". (adaptat după Garland Science)*

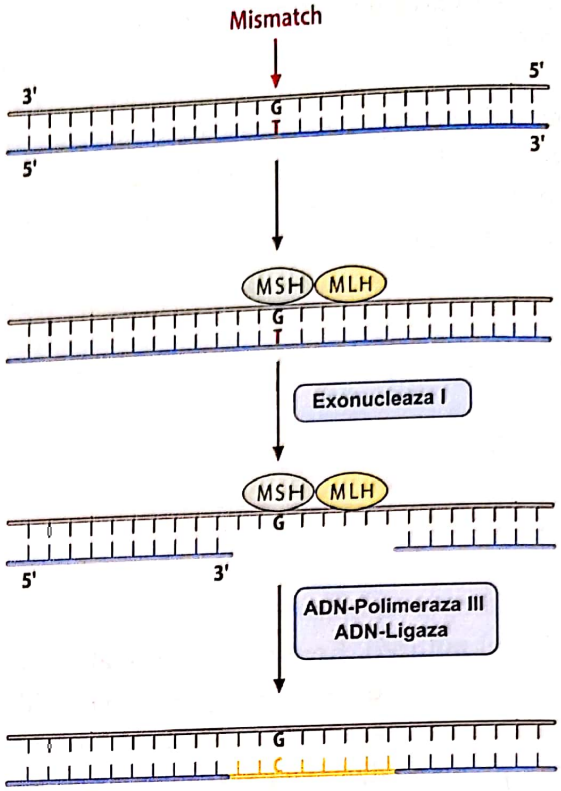


Figura 8.52. *Repararea secvențelor de încorporare eronată se numește "mismatch repair" și este un sistem de recunoaștere și reparare a bazelor încorporate greșit în timpul replicării sau recombinării ADN de către două complexe de proteine, MSH și MLH.*

Patobiochimie

Xeroderma pigmentosum este o boală genetică cu transmitere autozomal recesivă caracterizată prin incapacitatea de reparare a ADN-ului, după expunerea la radiații UV.

În anumite cazuri, este interzisă expunerea la soare, din acest motiv pacienții cu această boală sunt numiții „copii noptii". Se asociază cu apariția la vârste tinere a carcinoamelor bazo-celulare și a altor afecțiuni maligne ale pielii (Fig. 8.58). Melanomul malign metastatic și carcinomul cu celule scuamoase sunt cele mai frecvente cauze de deces la pacienții cu Xeroderma pigmentosum. Această boală afectează ambele sexe și toate rasele, cu o incidenta de 1: 250.000 în Statele Unite ale Americii. *Xeroderma pigmentosum* este de aproximativ șase ori mai frecventă la japonezi decât în alte populații.

Cancerul de colon este a doua cauză de mortalitate în SUA și este cauzat de inactivarea sistemului de reparare de tip „mismatch" a ADN-ului care apare cu o frecvență de 15% în cancerul colorectal fără risc familial.

Scanned with OKEN Scanner

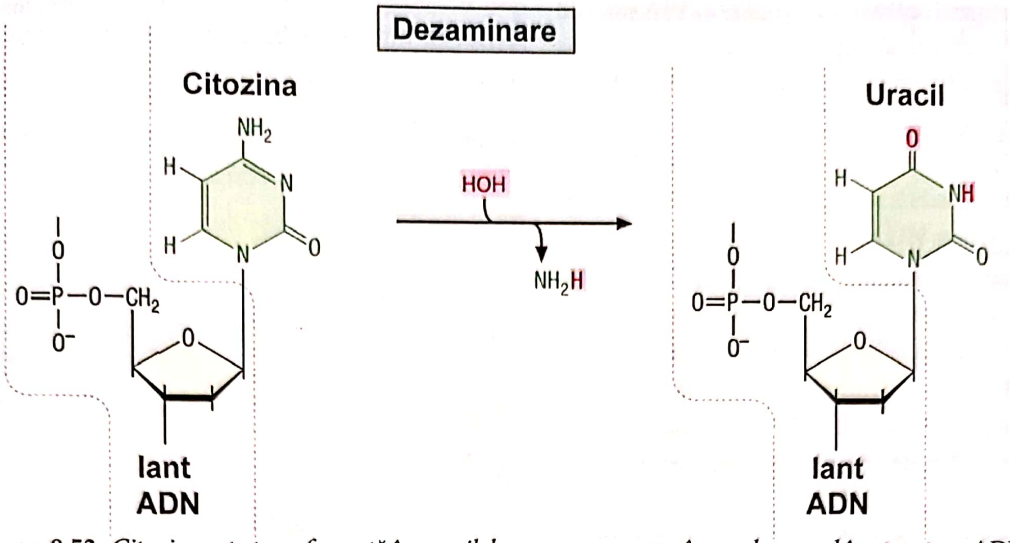


Figura 8.53. *Citozina este transformată în uracil, baza care nu apare în mod normal în structura ADN prin mutaţie neenzimatică cauzată de dezaminarea bazei azotate.*

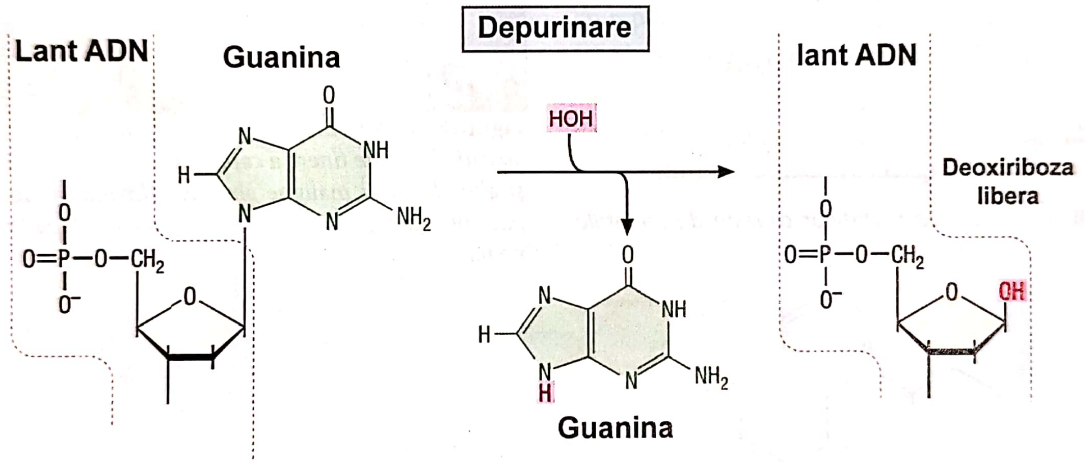


Figura 8.54. *Exemplu de mutaţie neenzimatică cauzată de depurinarea spontană a guanozinei din lanţul de ADN.*

Boala genetică cauzată de acest defect de reparare este numită „hereditary nonpolyposis colorectal-cancer, HNPCC“ . Deoarece celulele epiteliale intestinale se multiplică la fiecare 24 de ore, este uşor de dedus ca la o frecvenţă aşa de mare de replicare a ADN-ului probabilitatea unei mutaţii somatice este extrem de mare şi implicit a unui defect de repararea datorită unor erori de împerechere a bazelor („mismatch“).

Secvenţele repetitive în ADN cresc probabilitatea de copiere greşită a ADN-ului de către ADN polimeraza. Ca exemple avem genele care cauzează Sindromul-X, distrofia miotonică sau *Chorea Huntington* care conţin multiple copii a unui triplet de nucleotide. În cursul procesului de replicare a ADN-ului ADN polimeraza poate să copieze de mai multe ori aceste secvenţe, un fenomen numit „*polymerase slipping*“ ceea ce duce la lungimi anormal de mari a domeniilor afectate. Oamenii sănătoşi au în genom 10-35 triplete de CAG în gena care codifică proteina „*huntingtin*“. În schimb, pacienţii cu Chorea Huntington, au până la 120 de astfel de triplete. Consecinţa este formarea a 120 de reste de glutamină suplimentare şi în final la agregarea proteinei care precipită şi blochează activitatea celulei. Boala *Chorea Huntington* este neurodegenerativă şi se manifestă prin pierderea controlului sistemului nervos asupra muşchilor şi declin cognitiv datorită acumulării de agregate proteice în neuroni (Fig. 8.59). Boala se instalează după 35 de ani şi pacienţii nu pot controla mişcarea membrelor.

Scanned with OKEN Scanner

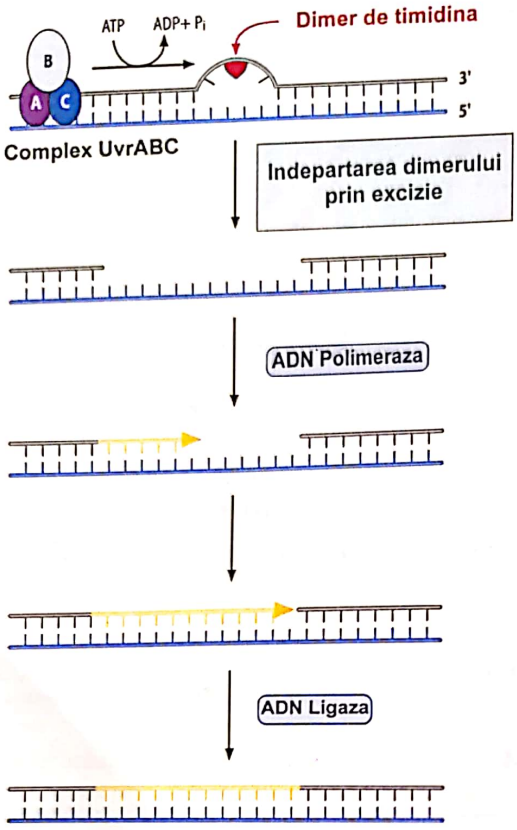


Figura 8.56. *Repararea mutațiilor cauzate de radiațiile UV.*

ADN-ul mitocondrial conține de 10 ori mai multe mutații decât cel nuclear.

O posibilă cauză este expunerea la radicalii liberi care sunt generați în timpul producerii de energie prin fosforilare oxidativă. La nivel biochimic aceasta rată ridicată de mutații din ADN-ul mitocondrial se poate manifesta la nivelul creierului și

Figura 8.58. *Xeroderma pigmentosum se asociază cu apariția la vârste tinere a carcinoamelor bazo-celulare și alte afecțiuni maligne ale pielii. Imaginea arată o pacientă cu X. pigmentosum din Bolivia (după Wikipedia).*

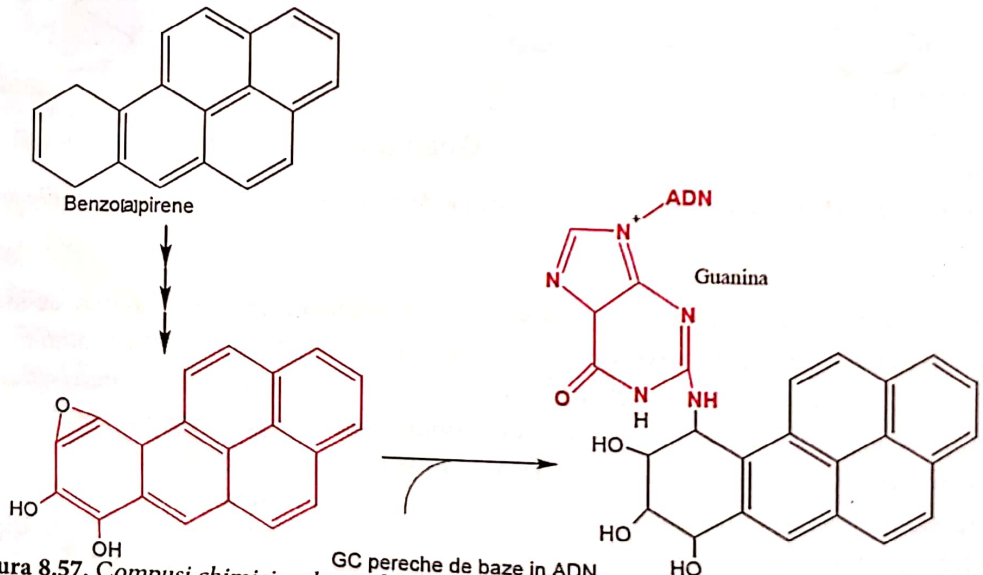


Figura 8.57. *Compuși chimici ca benzo[a]pirenul determină mutații la nivelul ADN prin împiedicarea formării legăturilor între bazele pereche, G-C.*

Mutații în ADN-ul mitocondrial

Mitocondriile conțin ADN propriu, acesta codificând 13 proteine și 24 molecule de RNA. Materialul genetic din mitocondrii se transmite pe cale exclusiv maternă.

musculaturii în cazul bolilor generic denumite encefalopatii.

Scanned with OKEN Scanner

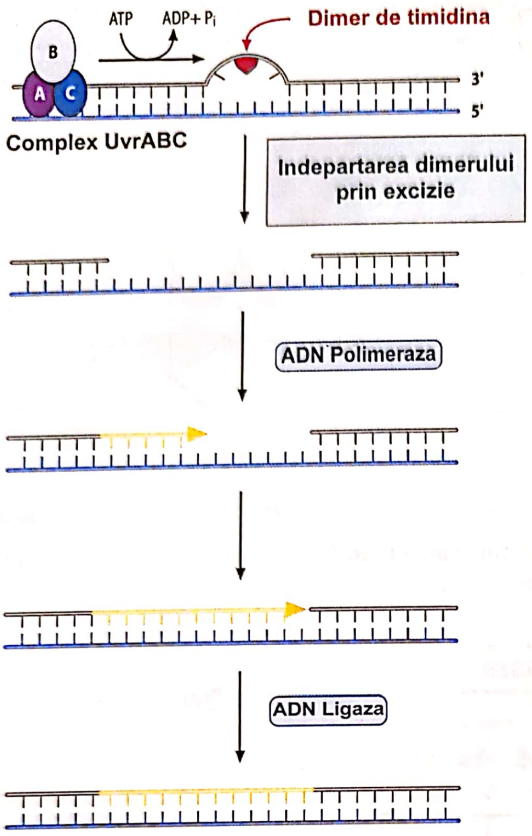


Figura 8.56. *Repararea mutaţiilor cauzate de radiaţiile UV.*

ADN-ul mitocondrial conţine de 10 ori mai multe mutaţii decât cel nuclear.

O posibilă cauză este expunerea la radicalii liberi care sunt generaţi în timpul producerii de energie prin fosforilare oxidativă. La nivel biochimic aceasta rată ridicată de mutaţii din ADN-ul mitocondrial se poate manifesta la nivelul creierului şi

Figura 8.58. *Xeroderma pigmentosum se asociază cu apariţia la vârste tinere a carcinoamelor bazo-celulare şi alte afecţiuni maligne ale pielii. Imaginea arată o pacientă cu X. pigmentosum din Bolivia (după Wikipedia).*

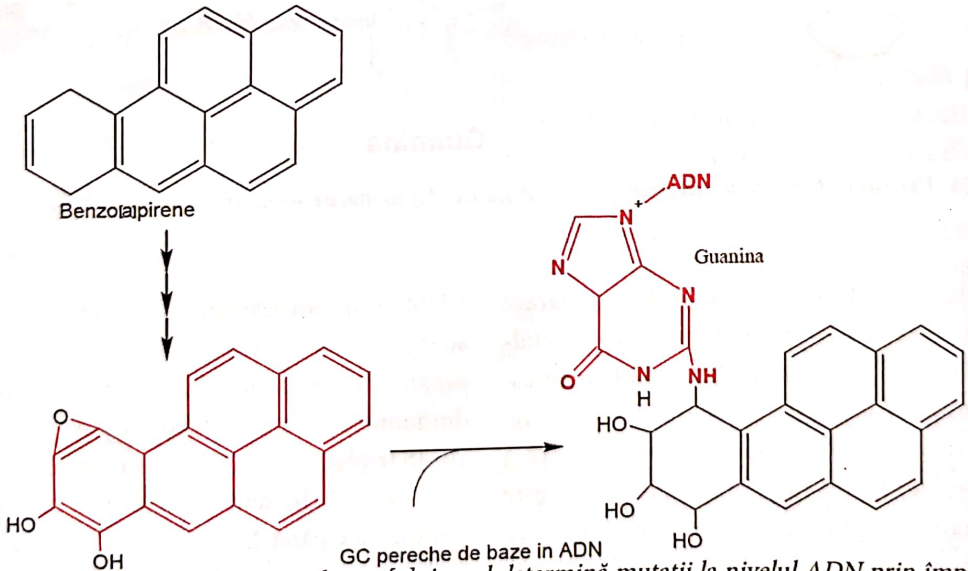


Figura 8.57. *Compuşi chimici ca benzo[a]pirenul determină mutaţii la nivelul ADN prin împiedicarea formării legăturilor între bazele pereche, G-C.*

Mutaţii în ADN-ul mitocondrial

Mitocondriile conţin ADN propriu, acesta codificând 13 proteine şi 24 molecule de RNA. Materialul genetic din mitocondrii se transmite pe cale exclusiv maternă.

musculaturii în cazul bolilor generic denumite encefalopatii.

Scanned with OKEN Scanner

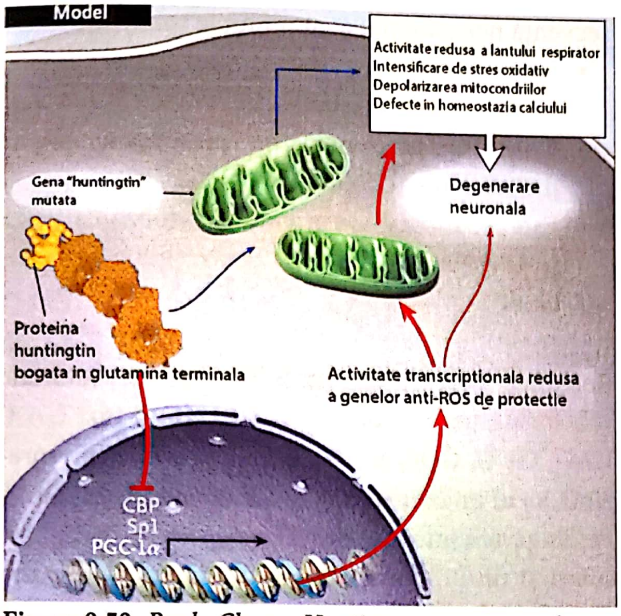


Figura 8.59. *Boala Chorea Huntington este neurodegenerativă și este cauzată în parte, de un defect mitocondrial în regularea transcripției unui factor neuroprotectiv, „Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α(PGC-1α)", care în mod normal neutralizează speciile de oxigen reactive (ROS). (Modificat după Greenamyre, JT, NEJM 356, 2007).*

Sinteza ARN are loc pe o matriță (template) de ADN și se numește *transcripție* (Fig. 8.60). Enzima responsabilă de procesul de copiere din cursul transcripției se numește ARN-polimeraza II și necesită prezența trinucleotidelor ATP, GTP, UTP și CTP. ARN-ul rezultat este monocatenar și are secvența complementară catenei de ADN matrița exceptând o baza, uracilul, în locul timinei. Catena de ADN este copiată în direcția 3′-5′ iar transcrierea ARN este realizată în direcția 5′-3′ și nu necesită prezența unui primer. Policondensarea nucleotidelor are loc ca și la ADN, prin legături fosfo-diesterice ce respectă regula bazelor perechi (Fig. 8.61).

Transcripția are loc în 3 etape distincte: **Inițiere**, **Extindere** și **Terminare** și este supusă unui control strict prin intermediul mai multor factori. Analog cu replicarea ADN, procesul de transcripție este inițiat la locații numite „promotori" (Fig. 8.62) caracterizate de secvențe specifice pentru fiecare genă, prin crearea unei brese în ADN-ul dublu catenar prin acțiunea unei de despiralizare numită

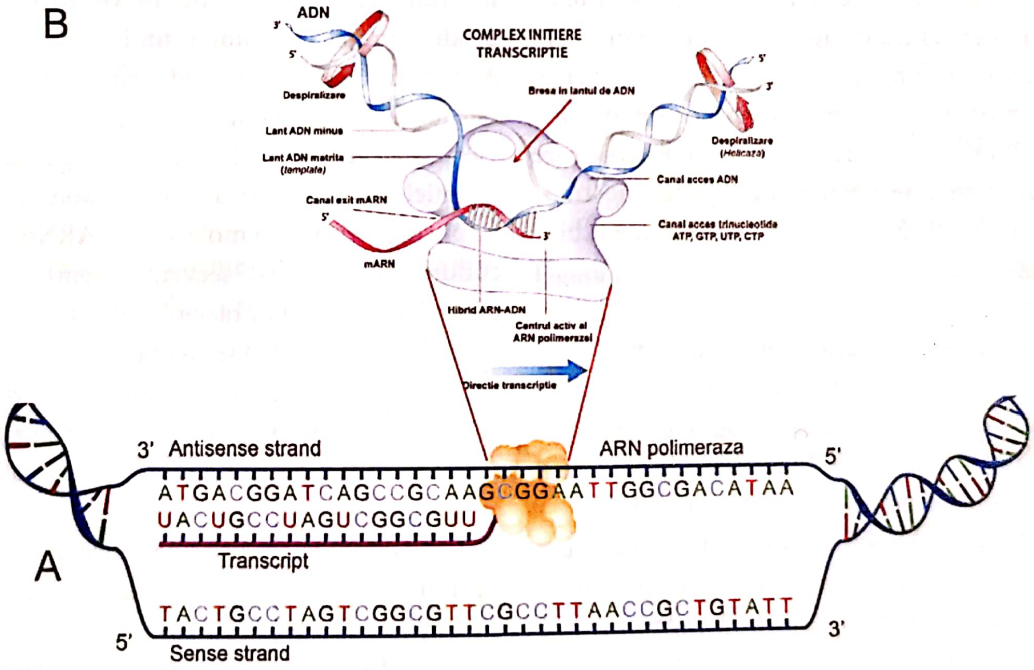


Figura 8.60. *Sinteza ARN are loc pe o matriță (template) de ADN și se numește transcripție(B). Detaliu de împerechere a bazelor în cursul transcripției în urma acțiunii ARN polimerazei este ilustrat în (A). (adapdat după Petrides, 2014).*

Sinteza ARN

Transferul de informație către citoplasma în vederea sintezei proteinelor este realizat de ARN mesager (mARN).

helicaza (Fig.8.60). În timpul elongării, ARN polimeraza catalizează reacții de condensare între nucleotide încorporate în baza complementarității dintre baze. Procesul de elongare este terminat când

Scanned with OKEN Scanner

ARN polimeraza întâlneşte secvenţa specifică de STOP.
Structura tipică a unei gene eucariote este indicată în (Fig. 8.63) şi distingem următoarele elemente unice din organizarea unei gene codificatoare:

- BRE (TFIIB recognition element)
- TATA-Box
- Inr (element iniţiator)
- MTE (secvenţa de 10 baze specifică)
- DPE (promotor „downstream")

Pentru o transcripţie eficientă sunt necesare cel puţin 3 din cele 5 elemente structurale. Procesul de formare a complexului de iniţiere este extrem de complex şi este prezentat simplificat în (Fig 8.63). Primul pas îl constituie ataşarea unei proteine la TATA-Box (TATA-Box-Binding Protein, TBP) urmat de ataşarea factorilor de transcripţie TFIID, TFIIA si TFIIB. În final, ARN polimeraza II se ataşează la promotor şi transcripţia poate începe.
În realitate, procesul este şi mai complex şi poate fi modulat de secvenţe care sunt localizate departe de locul de iniţiere al transcripţiei, numite „enhancer" sau „silencer" în funcţie de efectul modulator (Fig. 8.64). Un modulator universal (conservat în majoritatea speciilor) al transcripţiei este AMP ciclic care acţionează prin intermediul unui factor de transcriptie numit CREB (cAMP response element binding protein).

Majoritatea genelor eucariote nu au o secvenţă codificatoare continuă. În 1977 a devenit cunoscut că genele eucariote sunt întrerupe de secvenţe numite introni care în aparenţă nu codifică proteine. Totuşi aceste secvenţe necodificatoare se regăsesc în pre-mARN sau ARNm primar, dar sânt apoi îndepartate printr-un proces numit splicing în urma căruia ramân numai secvenţe codificatoare.
În celula eucariotă, acest process de *splicing* este catalizat de un complex ribonucleoproteic numit spliceosome. În urma acestui proces rezultă macromolecula de ARNm matură. La celulele eucariote ARNm matur constă dintr-o secvenţă "cap" la capătul 5` care este necodificatoare şi începe cu un rest de guanozină metilată, iar la capatul 3´ are o secvenţă poli(A) protectoare numită "coada", "tail" formată din resturi de adenină (Fig. 8.65) care este o secvenţă netraductibilă cu multiple roluri:

- Protejează lanţul de ARNm împotriva degradării de către ribonucleaze
- Constituie un semnal de transport al ARNm din nucleu în citoplasmă
- Este recunoscut de subunitatea ribozomală 40 S şi de aceea este esenţială pentru iniţierea translaţiei

Regiunea codificatoare conţine informaţii variate sub forma unor triplete numite codoni (ex: GAA, UAG, GUU, GUC etc). Codonii start şi stop reprezintă locul unde începe şi se termină transcripţia.
Pe lângă fenomenul de *splicing*, ARNm mai poate suferi şi un proces de editare ("editing") prin care dintr-o moleculă de ARNm pot rezulta două proteine diferite dar cu rol înrudit cum este cazul apolipoproteinelor B100 şi B48, prima localizată în ficat şi cealălaltă în intestin deşi provin din acelaşi ARNm (Fig. 8.66).

Un alt exemplu clasic de folosire multiplă a unei macromolecule de ARNm în vederea sintezei de produse proteice cu funcţii similare dar nu identice, este oferit de insulină. Gena care codifică insulina este localizată pe cromozomul 11 şi conţine 2 introni (secvenţe care nu codifică proteine). În urma transcriptiei şi îndepărtarea celor 2 exoni prin editare („splicing") rezultă o moleculă de ARNm care codifică pentru , (i) secvenţa „semnal", necesară pentru transportul intracelular al insulinei în reticolul endoplasmatic; (ii) secvenţa care codifică lanţul B şi (iii) secvenţa care codifică lanţul A (vezi cap. Peptide). După îndepărtarea secvenţei „semnal" rezultă molecula de „proinsulina" de aproximativ 9 kDa care are o structură asemănătoare cu „insulin-like growth factor", IGF1. În urma procesării proteolitice a proinsulinei rezultă insulina activă (Fig. 8.67).

Aspecte clinice-Medicamente antibacteriene
Rifampicina, antibioticul utilizat în terapia tuberculozei (Fig. 8.68) are proprietatea de a inhiba ARN polimeraza şi a împiedica astfel multiplicarea bacteriilor (*Mycobacterium tuberculosis*). Mutaţii survenite ulterior pot duce la formarea unei ARN polimeraze ce nu mai poate lega rifampicina, de aici şi rezistenţa bacilului la antibiotic. De aceea în terapia tuberculozei se preferă asocierea mai multor

Scanned with OKEN Scanner

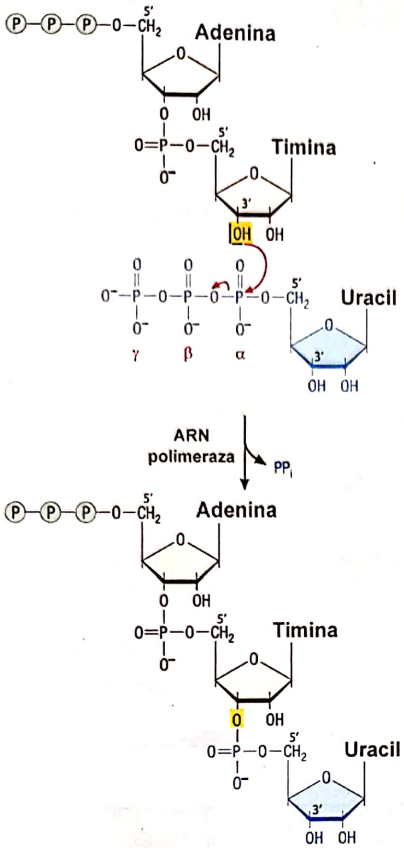


Figura 8.61. *Transcrierea în ARN este realizată în direcţia 5′-3′. Policondensarea nucleotidelor are loc prin legături fosfo-diesterice ce respectă regula bazelor perechi sub acţiunea ARN polimerazei (adapdat după Petrides, 2014).*

antibiotice care au mecanisme diferite, şi reduc şansele de apariţie a tulpinilor rezistente la tratament.

Alfa-amanitina care se găseşte în ciupercile otravitoare (Fig. 8.69), acţionează asupra ARN polimerazei inhibând-o. Primele simptome care apar sunt cele gastro-intestinale, dezechilibre hidro electrolitice, febra şi ulterior afectare hepatică si renală. Aceste simptome se remit în câteva săptămâni.

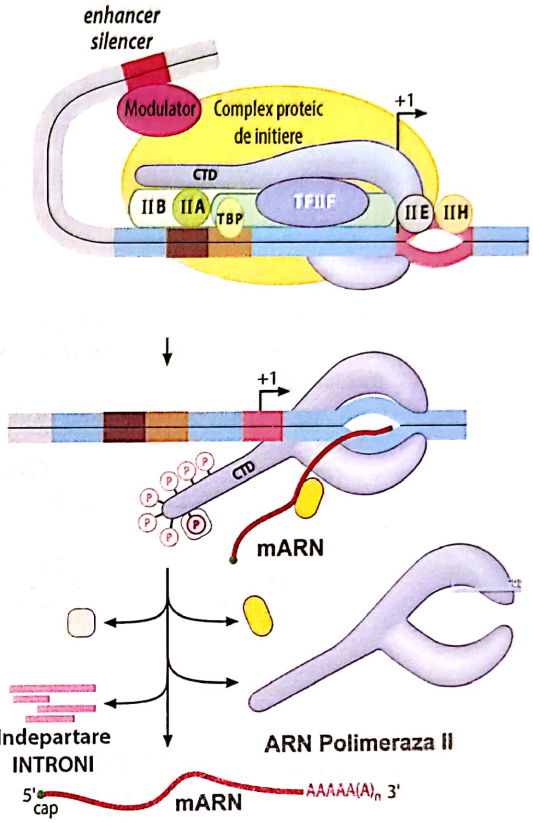


Figura 8.63. *Procesul de formare a complexului de iniţiere este extrem de complex şi necesită cel puţin 3 din cele 5 elemente structurale.*

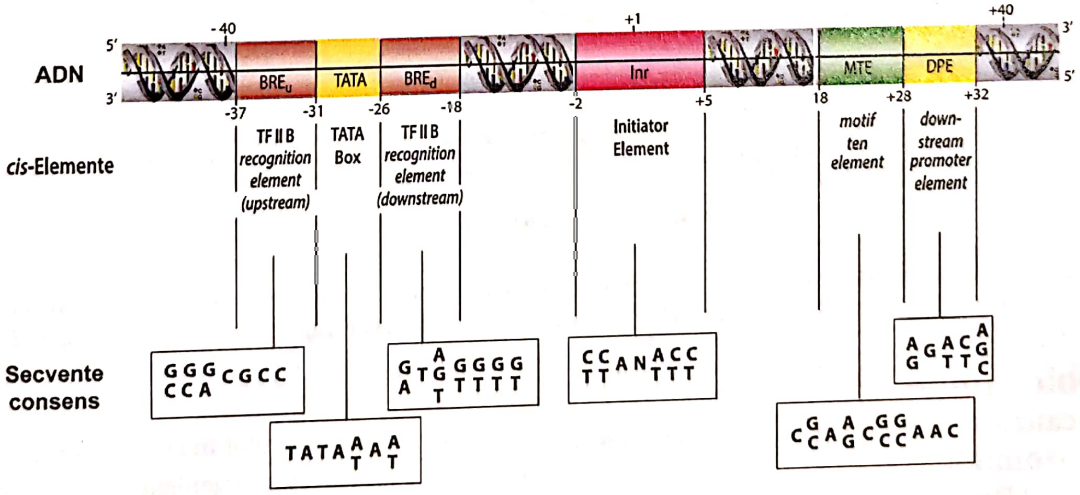


Figura 8.62. *Structura tipică a unei gene eucariote. Se disting următoarele elemente unice din organizarea unei gene codificatoare: BRE (TFIIB recognition element); TATA-Box; Inr (element iniţiator); MTE (secvenţa de 10 baze specifică).*

Scanned with OKEN Scanner

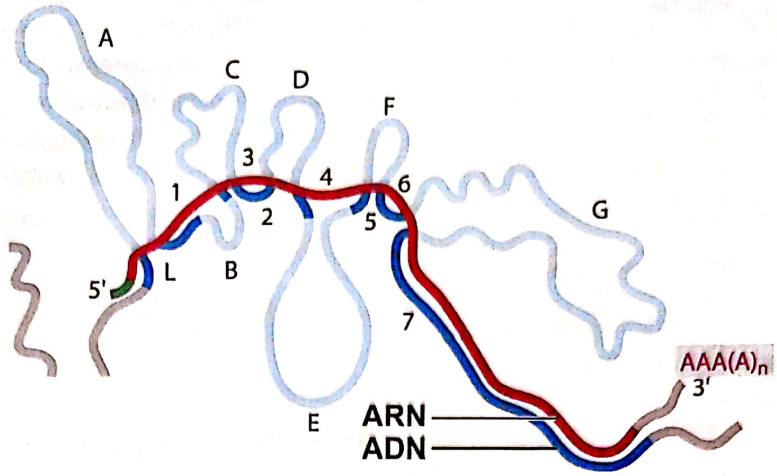


Figura 8.64. *Eficienţa transcripţiei poate fi modulată de elemente numite "enhancer" sau "silencer", dispuse la mare depărtare pe cromozom faţă de locul iniţierii transcripţiei.*

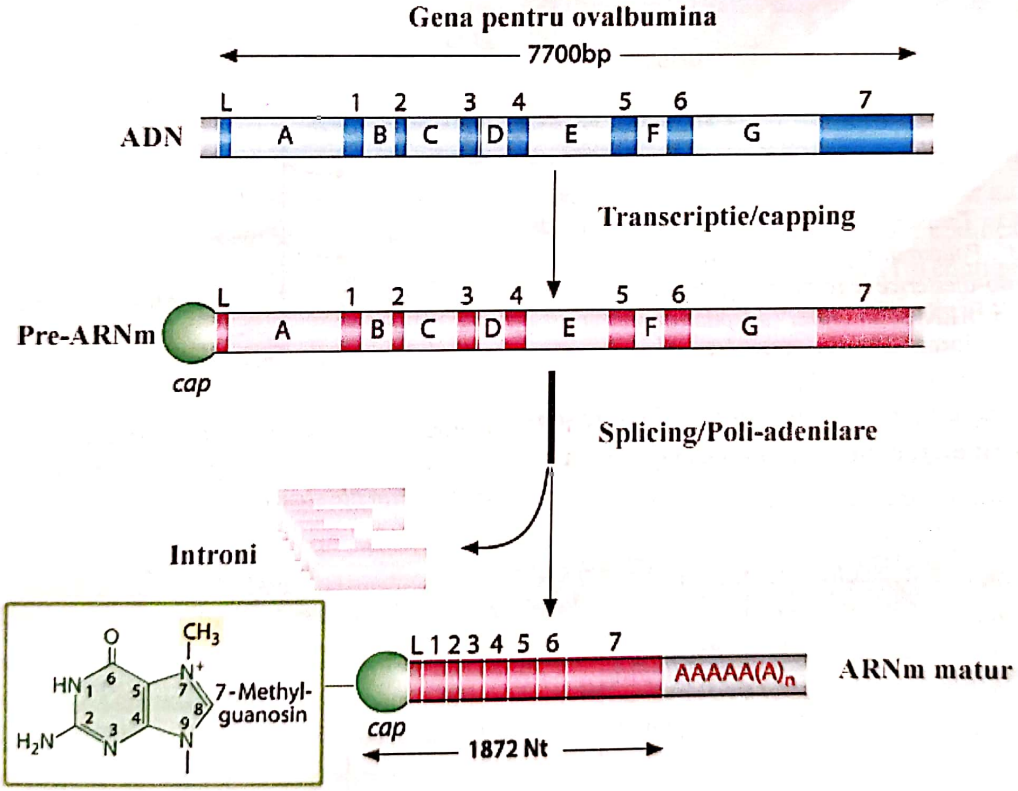


Figura 8.65. *Gena care codifică ovalbumina conţine numeroşi introni care prin procesul de splicing la nivel de ARN primar sunt îndepărtate. La celulele eucariote ARNm matur conţine o secvenţa "cap" la capătul 5` iar la capătul 3´ are o secvenţa poli(A).*

Patobiochimie

Boli cauzate de defecte în segregarea cromozomilor

Sindromul Down

Sindromul Down (numit şi *trisomie 21* sau idioţie mongoloidă) este o boală tipică cauzată de defecte în segregarea cromozomilor în faza meiotică a ciclului celular. Oamenii sunt organisme diploide. Aceasta înseamnă că pentru fiecare cromozom există două copii, una de la mamă şi alta de la tată. În timpul meiozei, numărul de cromozomi este

Scanned with OKEN Scanner

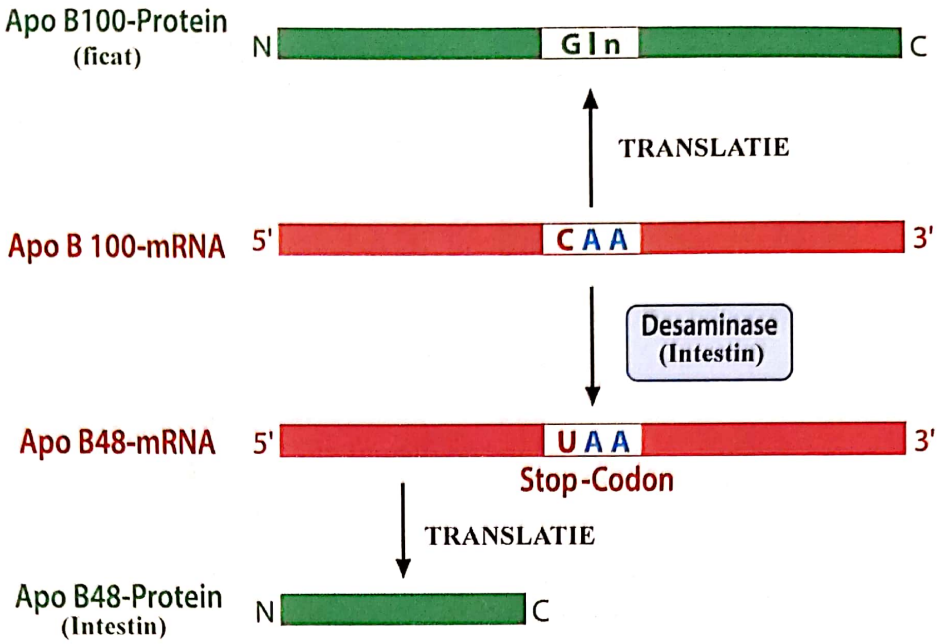


Figura 8.66. *Prin editare dintr-o moleculă de ARNm pot rezulta două proteine diferite dar cu rol înrudit cum este cazul apolipoproteinei B100 și B48.*

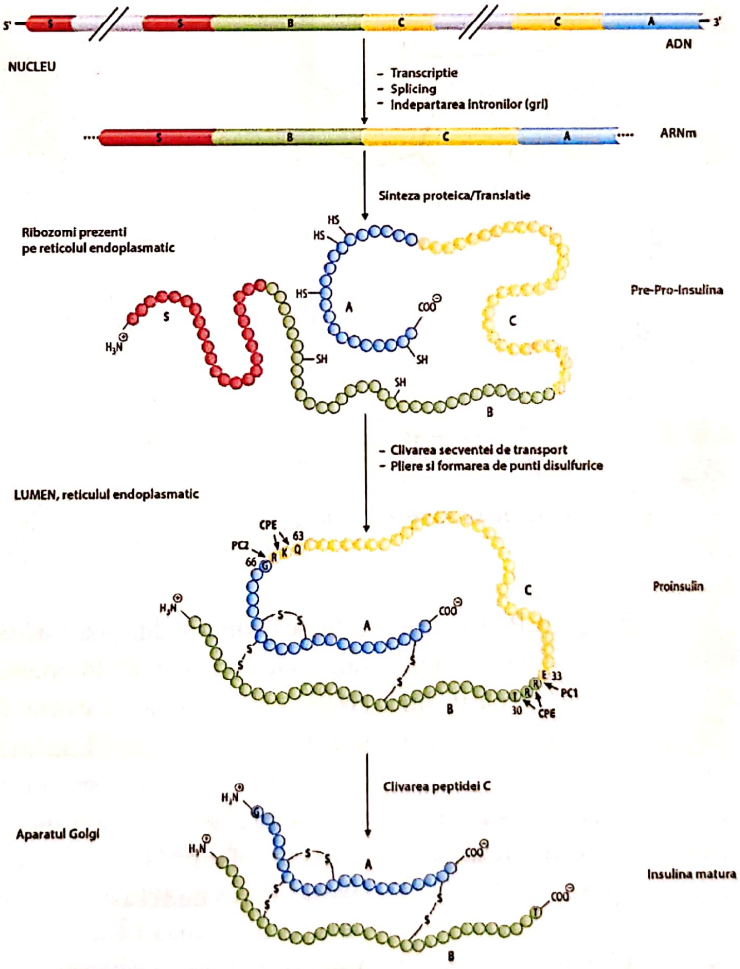


Figura 8.67. *Sinteza insulinei este un exemplu clasic de folosire multiplă a unei macromolecule de ARNm prin editare.*

Scanned with OKEN Scanner

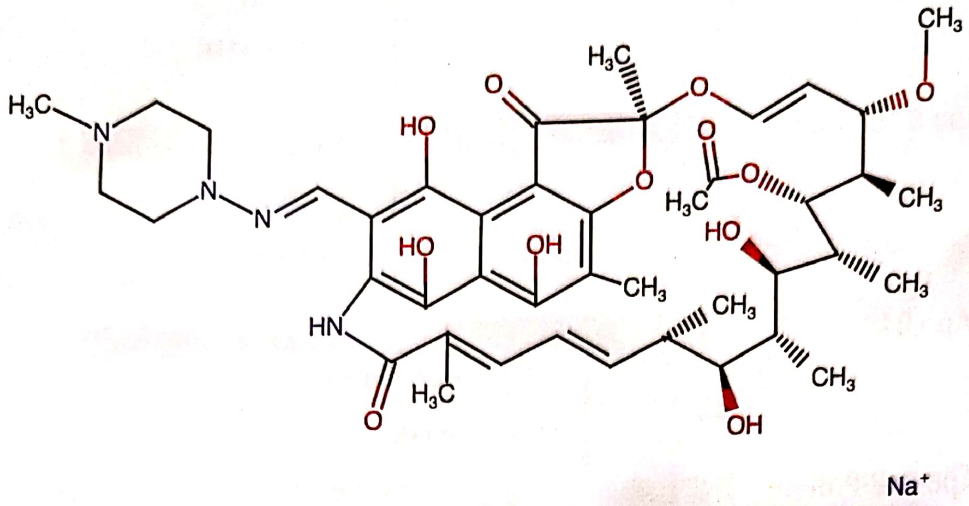


Figura 8.68. *Rifampicina este un antibiotic utilizat în terapia tuberculozei.*

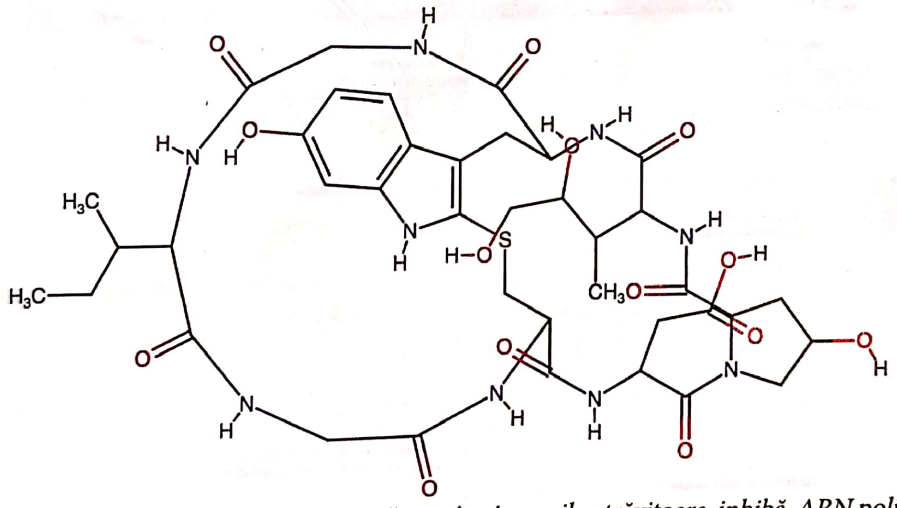


Figura 8.69. *Alfa-amanitina care se găseşte în ciupercile otrăvitoare, inhibă ARN polimeraza.*

redus la un singur set de cromozomi. Persoanele care suferă de sindromul Down, au o copie suplimentară a cromozomului 21, sau a unor părţi din acesta. În mod uzual, aceştia manifestă diverse grade de retardare mintală – sunt mai puţin inteligenţi, în comparaţie cu persoanele care nu suferă de acest sindrom. Copiii cu sindrom Down prezintă la naştere un aspect caracteristic (Fig. 8.70).

Boli asociate cromozomului X

Daltonismul, este o deficienţă a vederii în culori, şi reprezintă imposibilitatea sesizării diferenţelor între unele dintre acestea. Este, de cele mai multe ori, de origine genetică, dar poate avea şi cauze organice (ale ochiului, sistemului nervos sau afecţiuni ale creierului), sau poate fi cauzat de expunere la diverse substanţe chimice. Chimistul englez John Dalton (Fig. 8.4s) a publicat prima lucrare ştiintifică pe acest subiect în 1798, "Extraordinary facts relating to the vision of colours", după ce a conştientizat faptul că el însuşi suferea de această afecţiune.

Pornind de la această lucrare, deficienţa a fost denumită **daltonism**.

Sistemul color la oameni este tricromatic şi este determinat de celulele tip "con" din fovea din retină

Scanned with OKEN Scanner

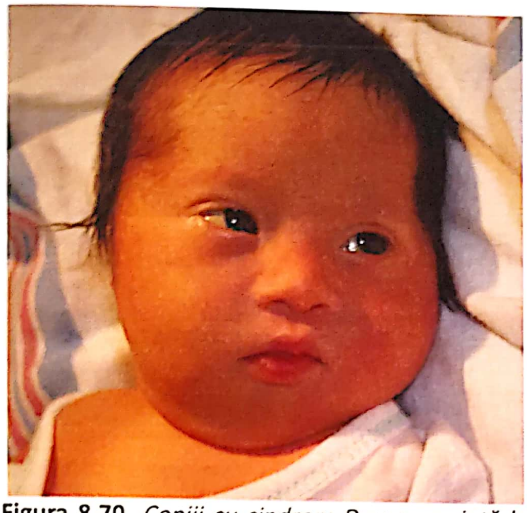


Figura 8.70. *Copiii cu sindrom Down prezintă la naştere un aspect caracteristic.*

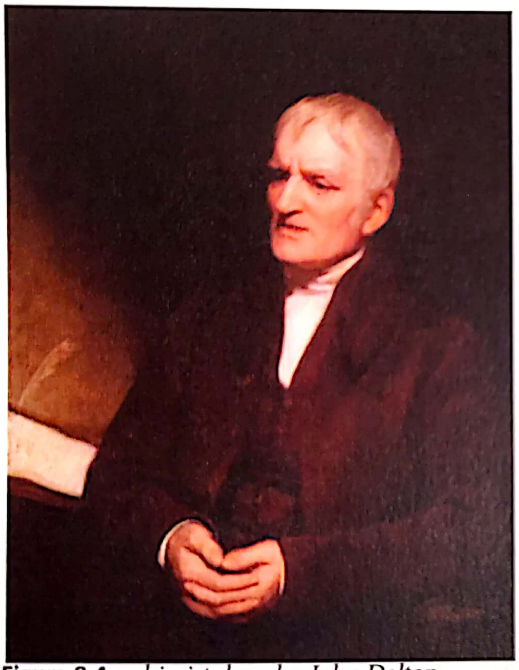


Figura 8.4 s *chimistul englez John Dalton*

numite conuri care conţin fotopigmenţi bazaţi pe retinal (*vezi si cap Vitamine*) capabili să absorbă selectiv componentele spectrale verzi, roşii şi albastre din lumina albă (Fig. 8.71). Reamintim, că a două categorie de celule fotosensibile, bastonasele care sunt localizate în retină, sunt responsabile de vederea monocromatică şi sunt utile îndeosebi spre seară, în lumina crepusculară (Fig. 8.72). Cauzele daltonismului pot fi multiple. În general însă, deficienţa se datorează defectelor în sistemul de conuri. De exemplu, dacă unul din pigmenţii din conuri lipseşte, avem cazul de vedere dicromatică. Majoritatea defectelor de vedere cromatică sânt în regiunea spectrală 480-560 nm. Cazul extrem apare când o persoană nu poate distinge culorile, deci posedă un sistem acromatic, alb-negru.

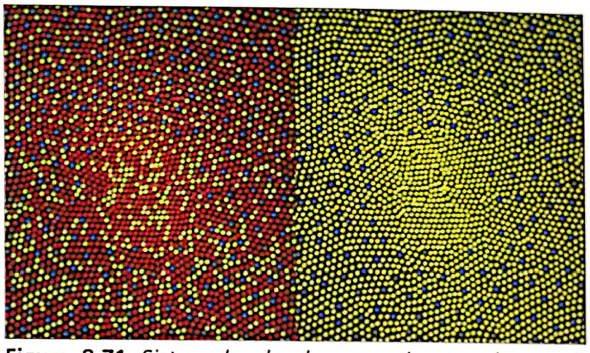


Figura 8.71 *Sistemul color la oameni este tricromatic RGB şi este determinat de fotopigmenti capabili să absorbe selectiv componentele spectrale verzi, rosii şi albastre din lumina albă.*

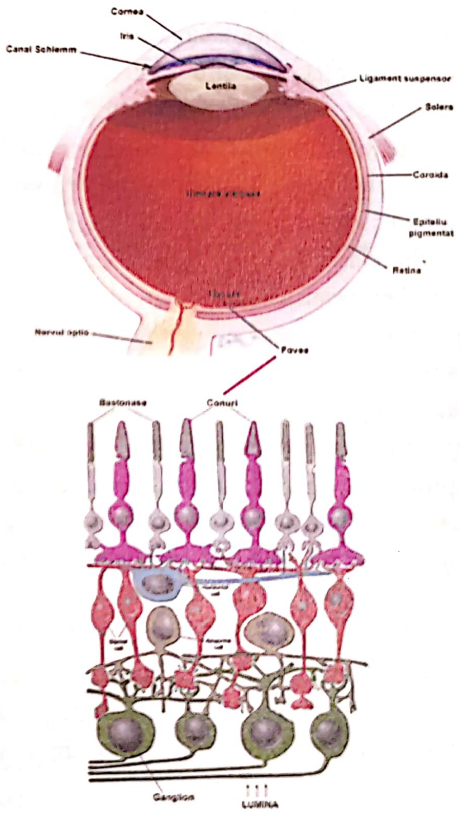


Figura 8.72 *Sistemul color la oameni este determinat de celulele tip "con" din fovea din retina şi celule tip "bastonaşe" care sunt localizate în retină şi sunt responsabile de vederea monocromatică.*

Genele si bolile

În 1902, un medic britanic renumit, Archibald Garrod, a observat că o serie de boli apar periodic în anumite familii. Studiul său, pe mai multe

Scanned with OKEN Scanner

generaţii de familii, a demonstrat ca anumite tulburări se comportă ca şi cum ar fi controlate de un singur factor ereditar. El a postulat atunci, că boala genetică este determinată de o schimbare în materialul genetic al strămoşului care se transmite apoi la descendenţi. Dr.Archibald a studiat alkaptonuria, care este o boală în care urina se colorează în negru la contactul cu aerul. Acesta se datorează faptului ca urina conţine alkapton, care colorează urina în negru la contactul cu oxigenul. La persoanele normale, alkaptonul (acidul homogentizic) este degradat, spre deosebire de persoanele cu alkaptonurie care nu-l pot degrada şi este excretat în urină. Alkaptonul nu poate fi degradat, deoarece nu există enzima care ar catalizează această reacţie (*vezi Cap. Metabolismului Aminoacizilor*). Astfel pacientul cu alkaptonurie prezintă un deficit enzimatic cauzat de defectul genei responsabile de producerea enzimei. Această genă a fost moştenită de la unul dintre părinţi.

La ora actuală se cunosc aprox. 4000 de boli care au o cauză genetică. Din acestea, doar pentru 1400 dintre ele se cunoaşte gena care conţine una sau mai multe mutaţii cu efect *fenotipic* (patologic).

Un exemplu clasic îl reprezintă phenilcetonuria (PKU). PKU este cauzată de mutaţii ale genelor implicate în producerea enzimei fenilalanina-hidroxilazei (PAH), care converteşte amino acidul fenialanina în alţi compuşi esenţiali pentru organism (*vezi Cap. Metabolismului Aminoacizilor*). PKU poate fi produsă şi de mutaţii care nu au legătură cu PAH. Aceste cazuri reprezintă un exemplu al heterogenităţii. Gena PAH este localizată pe cromozomul 12 în benzile 12q22-q24.1 (Fig. 9.73). Mai mult de 400 de mutaţii cauzatoare de boli au fost identificate pe gena PAH. Deficienţele genei produc un spectru larg de afecţiuni, incluzând PKU şi hiperfenilalaninemia (o acumulare de fenilalanină peste limita normală)

PKU este cunoscută ca o afecţiune genetică *recesivă autozomală*. Aceasta înseamnă că ambii părinţi trebuie să aibă cel puţin o alelă mutantă a genei PAH. Copilul trebuie să moştenească ambele alele mutante, câte una de la fiecare dintre părinţi. Din acest motiv, copilul cu un părinte care are alele funcţionale ale genei PAH nu va moşteni boala. Cel care are ambii părinţi cu alele mutante, va moşteni boala (Fig. 8.74). Testul se efectuează la scurt timp după naştere (Fig. 8.73).

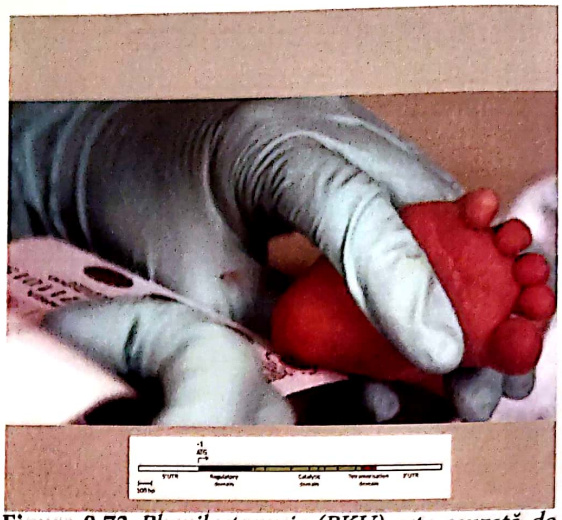


Figura 8.73 *Phenilcetonuria (PKU) este cauzată de mutaţii ale genelor implicate în producerea enzimei fenilalanina-hidroxilazei (PAH, imagine jos). Testul se efectuează la scurt timp după naştere.*

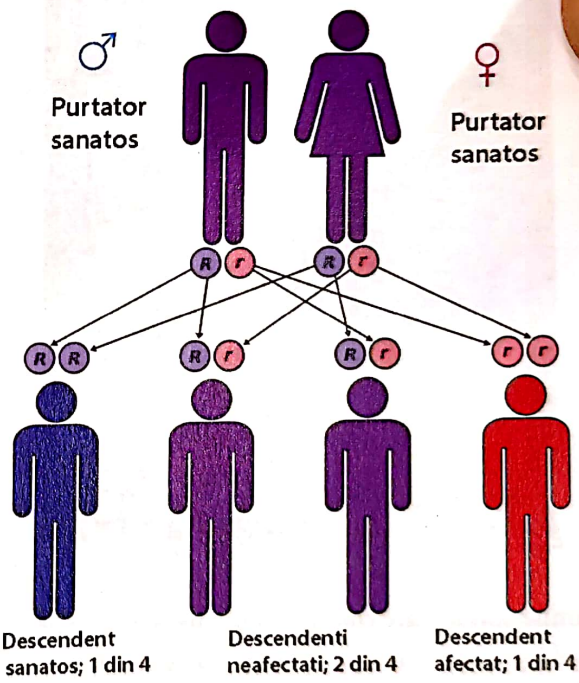


Figura 8.74 *Phenilcetonuria este cunoscută ca o afecţiune genetică recesivă autozomală. Aceasta înseamnă că ambii părinţi trebuie să aibă cel puţin o alelă mutantă a genei PAH.*

Bolile genetice au frecvenţe de manifestare foarte diferite. La ora actuală se cunosc peste 4000 de boli cu substrat genetic. Dintre acestea, la 1400 boli se cunoaşte şi gena defectă. Restul de 2600 se presupune că sunt boli poligenice, adică sunt manifestarea clinică a mai multor gene simultan.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 8.2 *Prevalența bolilor genetice*

Prevalenta aproximativa	
Boli autozomal dominanta	
Hipercolesterolemia familiala	1:500
Boala polichistica renala	1:1250
Neurofibromatoza tipul I	1:2500
Sferocitoza ereditara	1:5000
Sindromul Margan	1:4000
Boala Huntington	1:15000
Boli autozomal recesive	
Siclemia	1:625
Fibroza chistica	1:2000
Boala Tay-Sachs	1:3000
Fenilcetonuria	1:12000
Mucopolizaharidoza	1:25000
Deficienta lipazei acide lizozomale	1:40000
Boli de stocare a glicogenului	1:50000
Galactozemia	1:57000
Boli cu transmitere x-linkata	
Daltonsim	1:20
Distrofia musculara Duchenne	1:7000
Hemofilia	1:10000

Frecvența de manifestare în rândul populației este extrem de diferită. De exemplu, gena ce codifică o enzimă responsabilă de conversia L-gulonolactonei în acid ascorbic, este defectă la toți oamenii și deci are frecvența de 1:1 (Tabelul 8.2). Din acest motiv aportul alimentar de vitamina C este obligatoriu pentru oameni.

Oamenii cu un defect în gena care codifică o enzimă responsabilă de sinteza antigenelor eritrocitare A și B reprezintă 50% din populatie. Totuși acest defect nu are o semnificație clinică, cu excepția cazurilor în care au fost implicate transfuzii de sânge. Alte defecte, cum ar fi cel întâlnit la hemoglobină (sickle cell anemia) sunt mai rare, de aproximativ 1:200. În cazul fenilcetonuriei, care este cea mai frecventă boală legată de metabolismul aminoacizilor, frecvența este de 1:10.000 de naşteri.

Fibroza chistică este cauzată de o mutație a genei CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductange regulator).

Această genă este implicată în producerea transpirației, sucurilor digestive și a mucusului cu rol de surfactant. Majoritoarea persoanelor suferind de fibroză chistică au două copii funcționale ale genei CFTR, doar una fiind necesară ca boala să nu apară.

Această boală apare atunci când nici una dintre cele 2 gene nu funcționează normal. Din acest motiv, fibroza chistică este considerată ca o boală recesivă autosomală. Fibroza chistică este mai des întâlnită la caucazieni și evreii Ashkenazi; una din 25 de persoane cu descendență europeană având o genă nefuncțională. Aproximativ 30 000 americani au această boală, reprezentând una dintre cele mai des întâlnite

Scanned with OKEN Scanner

afecţiuni moştenite, cu evoluţie fatală.

Sindromul Hunter sau mucopolizaharidoza este o boală lizozomală care afectează în primul rând bărbaţii şi se manifestă prin acumularea anormala de mucopolizaharide în lizozomi şi excreţia excesivă de condroitin sulfat. Manifestările clinice includ aspectul facial, un cap sau un abdomen mărit. Persoanele suferind de acest sindrom pot să sufere pierderi ale auzului, îngroşarea valvelor inimii ducând în final la boli cardiace, boli obstructive ale căilor respiratorii, apnee în timpul somnului şi măriri în volum ale ficatului şi splinei (hepato-splenomegalie). Amplitudinea mişcării şi mobilitatea sunt afectate. În unele cazuri, sistemul nervos este afectat şi apar întârzieri în dezvoltarea mintală şi afecţiuni neurologice. Sindromul Hunter este totdeauna sever, progresiv şi afectează durata vieţii.

Neurofibromatoza (NF) este o boală moştenită genetic în care ţesuturile nervoase dezvoltă tumori (de exemplu neurofibroame) care pot fi puţin periculoase sau pot cauza distrugeri severe prin compresia nervilor şi a altor ţesuturi (Fig. 8.75).

Această boală afectează toate celulele neurale (celulele Schwann, dar şi melanocitele şi fibroblaştii). Elementele celulare din aceste tipuri de celule se multiplică excesiv formând tumori iar melanocitele functionează anormal provoacă pigmentarea pielii. Boala este dominant autozomală, ceea ce înseamnă că afectează bărbaţii şi femeile în egală măsură, o singură copie a genei afectate fiind suficientă ca să apară manifestări clinice. Din acest motiv, dacă unul dintre părinţi are această boală, descendenţii au 50% sanse să sufere de aceeaşi afecţiune.

Boala **Tay-Sachs** (TSD), cunoscută şi sub denumirea de GM2 gangliozidoza este o deficienţă genetică autosomală recesivă. În varianta sa cea mai des întâlnită, cunoscută ca boala Tay-Sachs infantilă, se manifestă ca o deteriorare gradată a abilităţilor mentale şi psihice care încep la vârsta de 6 luni şi, de obicei, se finalizează cu decesul în jurul vârstei de 4 ani. Boala apare când cantităţi mari de gangliozide se acumulează în celulele nervoase ale creierului, conducând eventual la moartea prematură a acestora. În acest moment nu există tratament sau metode de vindecare (vezi si Cap. Glicoconjugati)

Figura 8.75 *Neurofibromatoza este o boală moştenită genetic în care ţesuturile nervoase dezvoltă neurofibroame.*

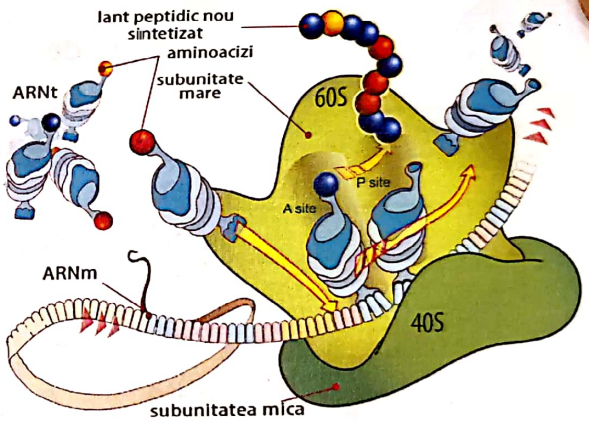


Figura 8.76. *Procesul de translaţie prin care se sintetizează proteinele este extrem de complex. ARNm matur se leagă de subunitatea 40S a ribozomilor şi împreună cu ARNt furnizează informaţia pentru sinteza proteinelor sau translatie (https://en.wikipedia.org/wiki/Protein_biosynthesis).*

Scanned with OKEN Scanner

Sinteza proteinelor

Sumar: *În urma procesului de transcripţie şi editare al pro-ARNm, ARNm matur rezultat se leagă de subunitatea 40S a ribozomilor şi împreună cu ARNt formează complexul iniţiator pentru sinteza proteinelor sau translaţie. Informaţia conţinută de ARNm se referă la ordinea şi identitatea aminoacizilor care sunt transportaţi de ARNt dintr-un pool din citoplasmă, la un situs specific de pe ribozomi. Aminoacizii sunt codificaţi de 3 baze azotate din lanţul de ARNm care constituie codul genetic. Procesul de translaţie prin care se sintetizează proteinele este extrem de complex, mai ales la eucariote (Fig. 8.76). Sinteza proteinelor este un proces mare consumator de energie, patru molecule macroergice (doua de ATP şi două de GTP) sunt consumate pentru fiecare aminoacid încorporat. Descifrarea etapelor şi mecanismelor translaţiei au permis descoperirea raţională a multor medicamente care sunt folosite curent în combatarea infecţiilor virale şi bacteriene precum şi în terapia cancerului.*

Codul genetic

Reprezintă o colecţie de codoni (succesiunea a 3 nucleotide) ce codifică în mod specific aminoacizii ce intră în structura proteinelor. El a fost descris pentru prima dată în anul 1961 de către Nirenberg.

Codul genetic are anumite caracteristici (Fig. 8.77):

- este degenerat – un aminoacid este codificat de mai mult de un codon
- nu este ambiguu – deşi un aminoacid este codificat de mai mulţi codoni, reciproca nu este valabilă. Un codon nu codifică niciodată mai mult de un aminoacid
- este universal- toate organismele studiate se supun aceluiaşi cod genetic, cu foarte puţine exceptii
- este fără punctuaţii- nu există punctuaţii care să separe un codon de celălalt.

Sinteza proteinelor are loc prin procesul numit *translaţie* şi are loc la nivelul ribozomilor. Procesul de sinteză al proteinelor cuprinde mai multe etape: ***Iniţiere, Extensie, Terminare.*** Citirea informaţiei din ARNm are loc direcţia 5′-3′. Citirea începe de la codonul de start 5′-AUG care codifică metionina şi se termină în dreptul codonului stop, (UAG,UGA sau UAA).

Codonul de start este (AUG) şi codifică aminoacidul Metionina (Met). Din acest motiv, toate proteinele încep cu metionina. Dar aceasta nu înseamnă că toate proteinele din organismul uman conţin metionina la capătul aminoterminal. Adesea restul de metionină este îndepărtat pentru că face parte din secvenţa semnal necesară pentru transportul proteinei prin reticolul endoplasmatic care de obicei este îndepărtată după maturarea proteinei.

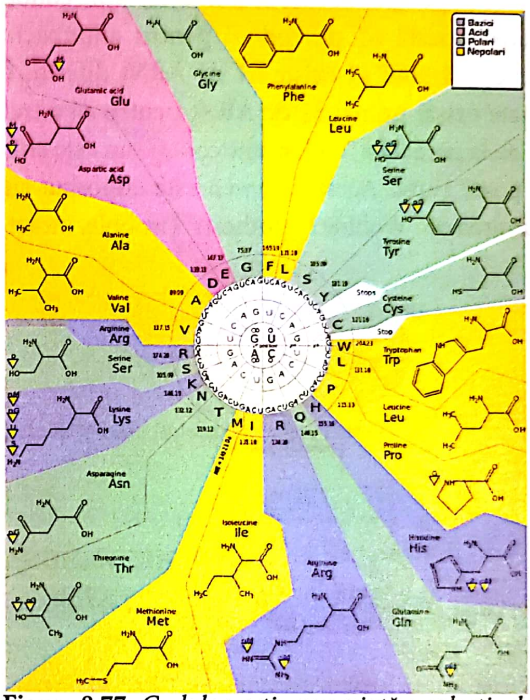


Figura 8.77. *Codul genetic reprezintă o colecţie de codoni formaţi din 3 nucleotide ce codifică aminoacizii ce intră în structura proteinelor.*

1. Iniţierea translaţiei

Presupune formarea unui complex între subunitatea ribozomală 40S şi ARNm care cuprinde metionil-tARN legat la codonul de start de la capatul 5' al moleculei de ARNm şi situsul P (peptidil) de pe suprafaţa ribozomului. Acest proces necesită prezentă GTP şi factori de iniţiere (eIF1, eIF1A, eIF3, eIF4-eukaryotic initiation factors)(Fig. 9.78). În faza următoare are loc hidroliza GTP cu eliberarea factorilor de elongare, eIF1A, eIF1, eIF3 concomitent cu asocierea subunităţii ribozomale 60S.

O etapă premergatoare formării acestui complex iniţial este activarea aminoacizilor dintr-un pool citoplasmatic prin reacţia cu ATP, o moleculă bogat energetic. Ataşarea aminoacidului activat la molecula de ARNt are loc sub acţiunea catalitică a enzimei

Scanned with OKEN Scanner

aminoacil tRNA sintetaza (Fig. 8.79). Cum poate recunoaște o enzimă care dintre aminoacizi trebuie atașat de ARNt specific? Răspunsul este că pe lângă aminoacid și ARNt sunt mai sunt și alți factori astfel încât enzima aminoacil tRNA sintetaza recunoaște un complex terțiar cu o conformație spațială specifică. Aminoacizii activați sunt întotdeauna atașați de secvența CCA de la capătul 3' al ARNt care posedă la capătul terminal 5' un triplet de baze complementar celui de pe ARNm care se numește, "anti-codon". Deoarece există 61 de codoni pentru aminoacizi, teoretic ar trebui să existe 61 de ARNt diferiți. În realitate există numai 31 de ARNt pentru că a treia bază de la perechea "codon-anticodon" nu este chiar fixă, poate varia. Acest fenomen este cunoscut sub denumirea de "Wobble hypothesis" (wobble, incert).

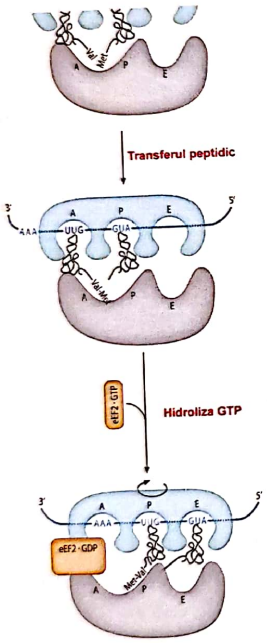


Figura 8.78. *Inițierea translației presupune formarea unui complex între subunitatea ribozomală 40S, ARNm, metionil-tARN, GTP și factori de inițiere eIF1, eIF1A, eIF3, eIF4.*

Elongarea

După atașarea primului aminoacid (Met) ar trebui să fie posibilă atașarea următorului aminoacid.

În acest scop unitatea mică ribozomală (40S) are 2 situsuri pentru ARNt, „Peptidyl" (P) și „Aminoacyl" (A). Elongarea lanțului polipeptidic implică trei etape (Fig. 8.80):

1. legarea aminoacil-tARN la situsul A (aminoacil) de pe suprafața ribozomului, corespunzator codonului următor din molecula ARNm.
2. formarea legăturii peptidice între primul și cel de al-2-lea aminoacid prin acțiunea enzimei peptidiltransferaza (Fig. 8.81).
3. translocarea ARNm astfel încât următorul codon ajunge în dreptul situsului A și este gata să accepte un nou acil-tARN.

Aceste trei etape se repetă până când se ajunge în dreptul codonului stop. Reținem că *lanțul polipeptidic progresează de la capătul N-terminal către cel C-terminal.*

Terminarea sintezei proteice

În momentul în care la locusul A apare un codon de STOP (UAG, UAA sau UGA) atunci în locul unui ARNt purtător de aminoacid se leagă un factor proteic de terminarea sintezei„eukaryotic release factor = eRF". Acest factor este responsabil de eliberarea lanțului proteic nou sintetizat (Fig. 8.82). Complexul ribozomal disociază imediat în cele 2 subunități, 40S si 60S devenind astfel disponibile pentru noi sinteze. Biosinteza unei proteine durează circa 20 până la 60 secunde. De regulă, o moleculă de ARNm este angajată simultan de mai mulți ribozomi care formează structuri asemănătoare cu un lanț de mărgele. Acest lanț este posibil deoarece după ce un ribozom s-a format și inițiat o sinteză de proteină, codonul de inițiere devine disponibil și poate angaja încă un ribozom (Fig. 8.83).

O viziune dinamică a sintezei proteice poate fi urmărită la adresa web: https://en.wikipedia.org/wiki/Ribosome#/media/File:Protein_translation.gif

Inhibitori ai sintezei proteinelor. Aspecte clinice

Există antibiotice care au ca mecanism de acțiune blocarea sintezei proteice la nivelul etapelor majore ale acesteia (Fig. 8.84).

Inițierea sintezei proteice *bacteriene* presupune formarea complexului ribozomal 70S compus din subunitățile 30S și a 50S, Met-tRNA și codonul de start al ARNm poziționat în locusul "P". Acest proces de asamblare este inhibat de următoarele antibiotice: edeine (Ede), kasugamycin (Ksg), pactamycin (Pct) și thermorubin (Thb) pentru subunitatea 30S, și de

Scanned with OKEN Scanner

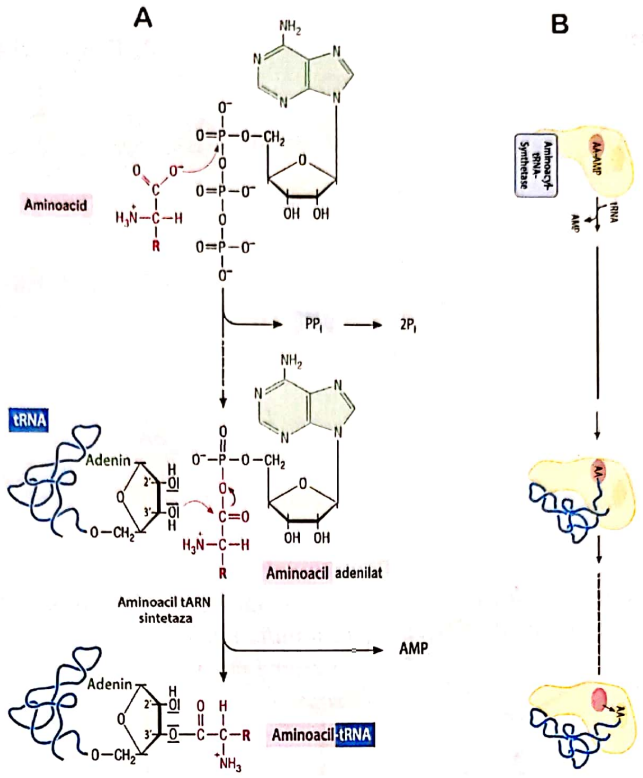


Figura 8.79. *Ataşarea aminoacidului activat la molecula de ARNt are loc sub acţiunea catalitică a enzimei aminoacil tRNA sintetaza.*

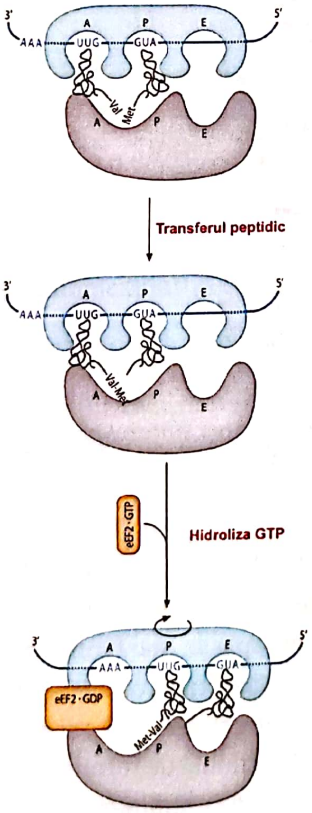


Figura 8.80. *Elongarea lanţului polipeptidic are loc după ataşarea primului aminoacid (Met) şi presupune formarea unei legături peptidice între 2 situsuri de pe ribozom „Peptidyl" (P) şi „Aminoacyl" (A).*

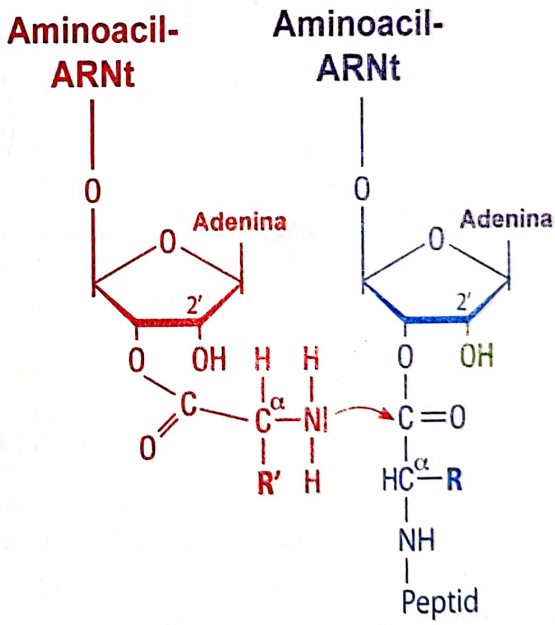


Figura 8.81. *Formarea legăturii peptidice între primul şi cel de al-2-lea aminoacid este catalizată de enzima peptidiltransferaza.*

orthosomycins avilamycin (Avn), evernimicin (Evn) şi thiostrepton (Ths) pentru subunitatea 50S. Procesul de elongare presupune ataşarea unui aminoacid acilat-ARNt(a a-tRNA) la locusul "A" de pe ribosom, şi a factorului de elongare Tu (EF-Tu).

Scanned with OKEN Scanner

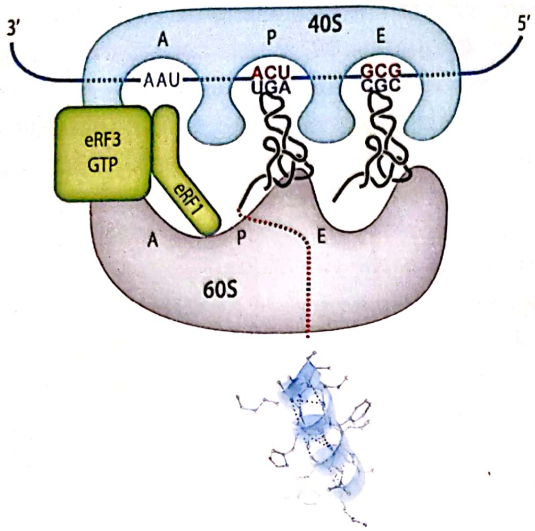


Figura 8.82. *Terminarea sintezei proteice are loc în momentul în care la locusul A apare un codon de STOP (UAG, UAA sau UGA).*

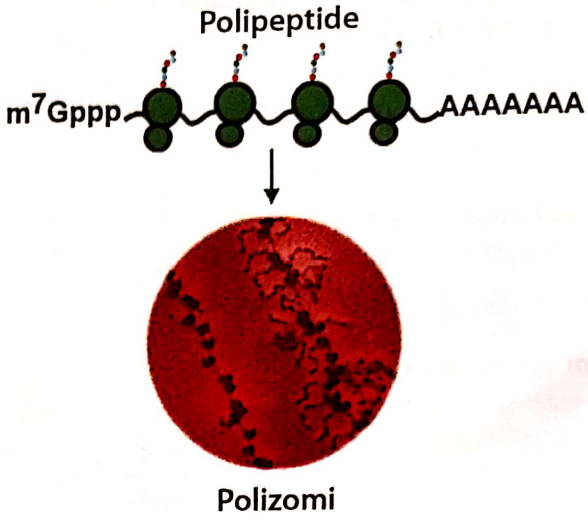


Figura 8.83. *De regulă, o moleculă de ARNm este angajată simultan de mai mulţi ribozomi care formează structuri asemănătoare cu un lanţ de mărgele numite poliribozomi.*

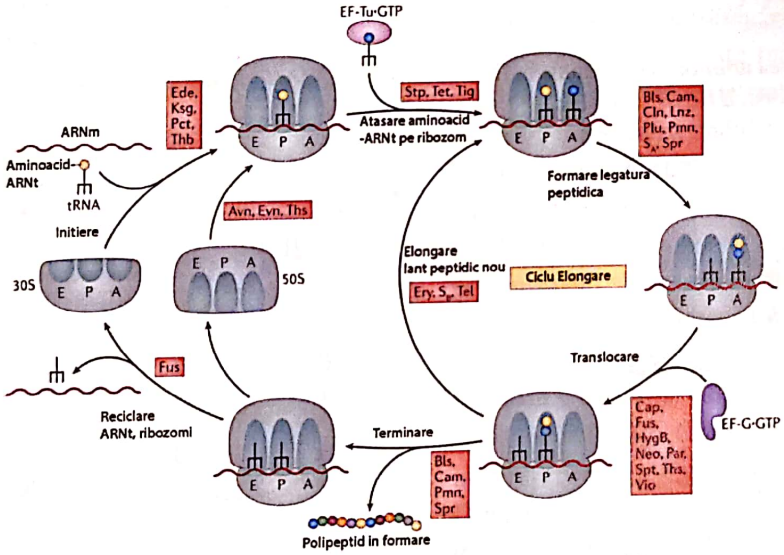


Figura 8.84. *Există antibiotice care au ca mecanism de acţiune blocarea sintezei proteice la nivelul etapelor majore ale acesteia (după Nature Reviews Microbiology 12,35–48, 2014).*

Elongarea poate fi inhibată de streptomicin (Stp), tetraciclines (Tet)(Fig. 8.85) şi glicilciclina şi tigeciclina. Formarea legăturii peptidice între locusurile "A" şi "P" este inhibată de blasticidin S (Bls), chloramphenicol (Cam) (Fig. 8.86), lincosamides (clindamycin (Cln), oxazolidinones (linezolid (Lnz)), pleuromutilins (Plu), puromicina (Pmn), streptogramina A (S_A) şi sparsomicina (Spr). Translocarea ARNt pe ribozomi necesita factorul EF-G şi este inhibată de tuberactinomicins capreomicina Cap) siviomicina (Vio), de higromicina B amino glicozidata (HygB), neomicina (Neo) şi paromomicina (Par), precum şi de acidul fusidic (Fus), spectinomicina (Spt) şi Ths. Elongarea lanţului peptidic este inhibată de macrolide (eritromicina (Ery) (Fig. 8.87), streptogramin B (S_B) şi ketolides (telitromicina (Tel). Faza finală de terminare a sintezei proteice este inhibată de antibiotice care inhibă enzima peptidil-transferaza cum ar fi Bls, Cam, Pmn and Spr, în timp de reciclarea subunităţilor ribozomale în vederea de noi sinteze proteice este inhibată de Fus. Un exemplu clasic de inhibiţie prin analogie

Scanned with OKEN Scanner

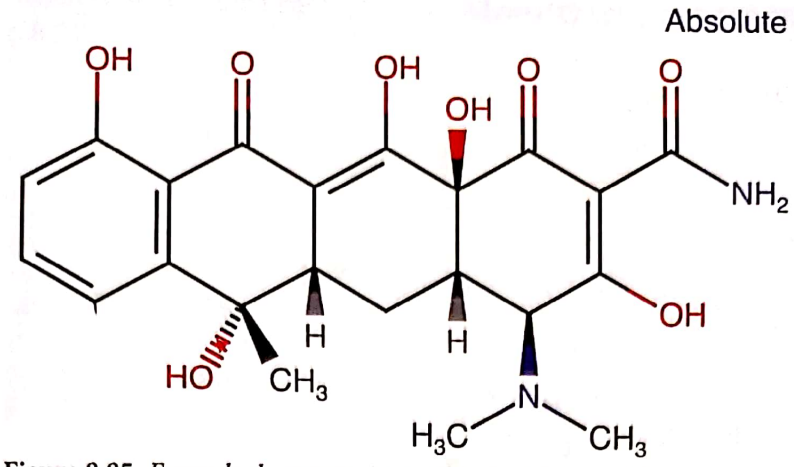


Figura 8.85. *Formula de structură a antibioticului, tetraciclina.*

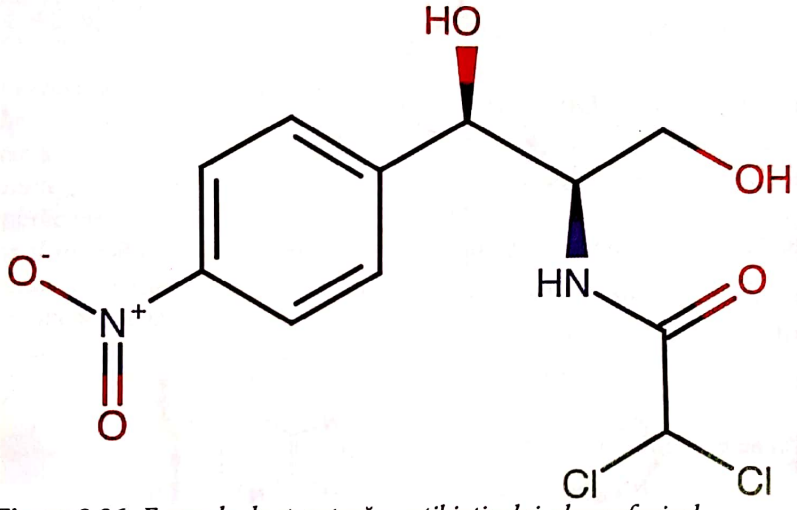


Figura 8.86. *Formula de structură a antibioticului, cloramfenicol.*

de substrat al oferă puromicina care are o structură asemănătoare complexului Peptidil-ARNt (Fig. 8.88).

Antibioticele sunt utilizate pentru a impiedica proliferarea bacteriană în cazurile unor infecţii acute. Dintre aceste antibiotice fac parte: eritromicina, cloramfenicolul, tetraciclinele, puromicina.

O problemă o reprezintă mutaţiile care pot condu

ce la rezistenţă la antibiotice. care poate fi cauzată de o multitudine de factori (Fig. 8.89). De exemplu, accesul antibioticului la locul de sinteză poate fi îngreunat de o permeabilitate redusă a peretelui bacterian în special la bacteriile Gram-negative şi micobacterii care devin rezistente la antibioticele din categoria macrolidelor. Sunt cazuri în care antibioticul este transportat în afara celulei printr-un mecanism tipic de eflux care se întâlneşte şi la nivelul barierei hematoencefalice.

Un alt caz de rezistenţa este datorat mutaţiilor care survin în molecula de ARNt şi în proteinele ribozomale. Cel mai frecvent însă sunt cazurile de modificare prin fosforilare, acetilare adenilare, glicozilare sau hidroxilare sau chiar inactivare al antibioticelor, de către enzime sintetizate de bacterii. Din acest motiv medicina este în căutare permanentă de noi antibiotice pentru a ţine sub control infecţiile grave, cum ar fi meningita.

Plierea post-translaţională a proteinelor

Proteinele au o structură tridimensională. Deoarece în timpul sintezei ribozomale lanţul poliptidic este linear, înseamnă că, teoretic pe măsura desfăşurării sintezei proteice, lanţul polipeptidic ar putea deja dobândi mai întâi structura secundară şi apoi structura primară prin interacţie cu celelalte lanţuri

Scanned with OKEN Scanner

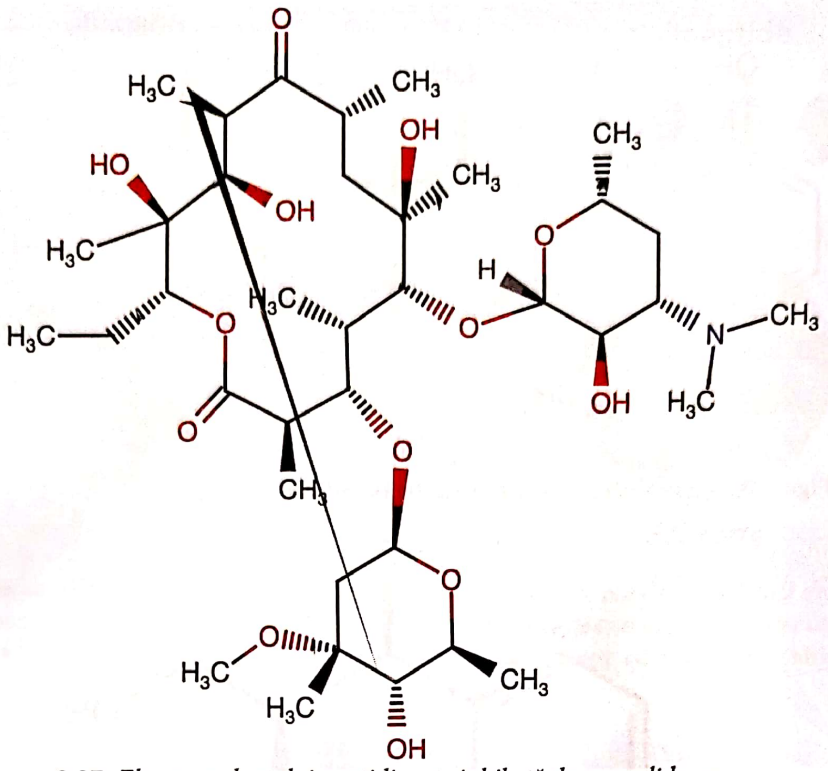


Figura 8.87. *Elongarea lanţului peptidic este inhibată de macrolide, ca eritromicina.*

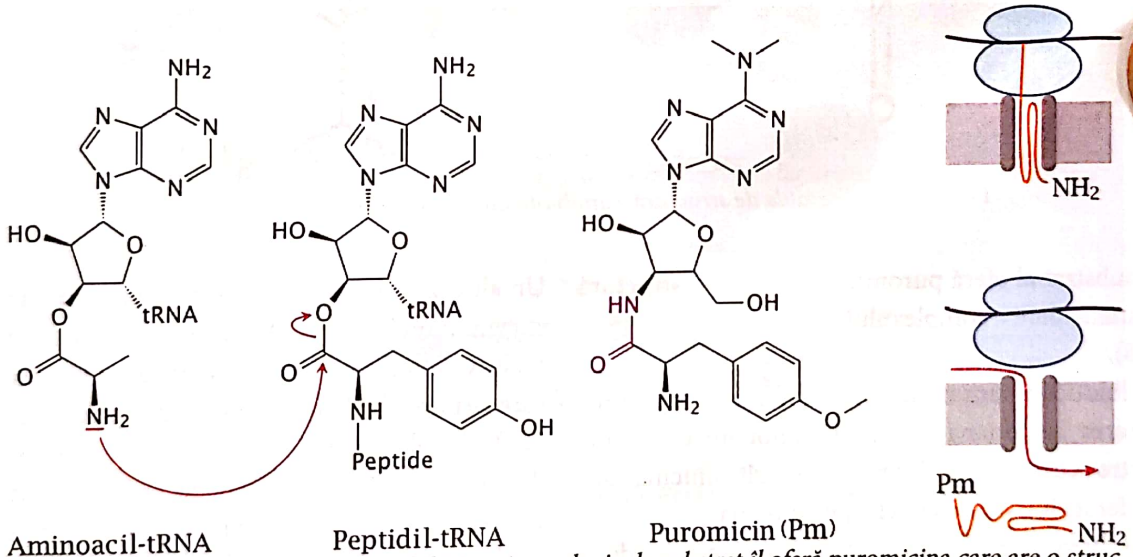


Figura 8.88. *Un exemplu clasic de inhibiţie prin analogie de substrat îl oferă puromicina care are o structură asemănătoare complexului Peptidil-ARNt*

polipeptidice aflate în sinteza pe *polizomi*.

Reamintim că informaţia furnizată de ARNm va determina numarul şi ordinea aminoacizilor din lantul polipeptidic, adică structura primară care la rândul ei va determina structurile secundare şi terţiare. Deci, teoretic, există riscul că pe măsura desfăşurării sintezei proteice lanţurile polipeptidice să se plieze în structuri secundare şi terţiare prin interacţie cu polipetidele identice alăturate de pe poliribozomi (Fig. 8.83).

Pentru a împiedica posibila interacţie între lanţurile polipeptidice în timpul sintezei proteice, este necesară complexarea lanţului poliptidic nou generată cu molecule mici, numite „chaperone" care menţin structura lanţului polipeptidic într-o formă aproximativ lineară (Fig. 8.90).

Un rol similar îl îndeplinesc histonele care menţin ADN-ul într-o formă nucleozomală lineară şi deci

Scanned with OKEN Scanner

putem spune că histonele sunt de asemenea „chaperone" (Fig. 8.90).

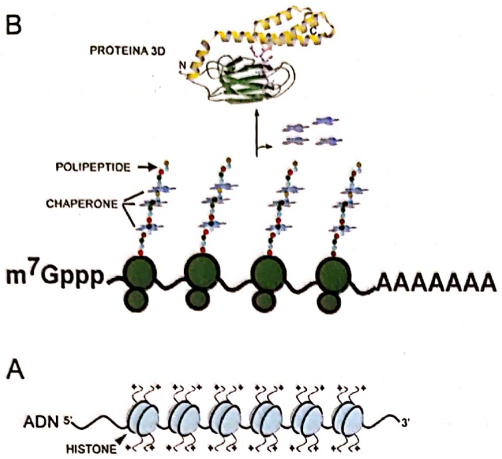


Figura 8. 90. *(A) Pentru a împiedica posibila interacţie între lanţurile poliptidice în timpul sintezei proteice este necesară complexarea lanţului poliptidic nou generat cu molecule mici, numite „chaperone" care menţin structura lanţului polipeptidic într-o formă aproximativ lineară. (B) Un rol similar îl îndeplinesc histonele care menţin ADN-ul într-o formă nucleozomală şi putem spune că histonele sunt de asemenea „chaperone".*

Modificări post-translationale ale proteinelor

Proteinele mature pot diferi faţă de proteinele nou sintetizate. Acest aspect a fost prezentat şi la enzime. Un exemplu clasic îl oferă unele enzime proteolitice care sunt sintetizate sub formă de „zimogeni", forme inactive catalitic. Forma catalitic activă a acestor enzime rezultă în urma îndepărtarii unui segment peptidic din lanţul linear al zimogenului respectiv, de exemplu tripsinogen, pepsinogen sau chimotripsinogen.

Alte proteine sunt modificate prin adiţie covalenta de resturi de zaharide, proces numit glicozilare care are loc post-translaţional în aparatul Golgi (Fig. 8.91). De asemenea proteinele care vor fi secretate sau inserate în membrana celulară au nevoie de resturi lipidice de exemplu, miristoil, care este adăugat ulterior sintezei proteice de asemenea în aparatul Golgi. Alte modificări post-translationale includ: hidroxilarea, fosforilarea care este mediată de kinaze, care au rol extrem de important în reglarea activităţii proteinelor respective. Aceste aspecte vor fi abordate în detaliu în cadrul ***Metabolismelor***.

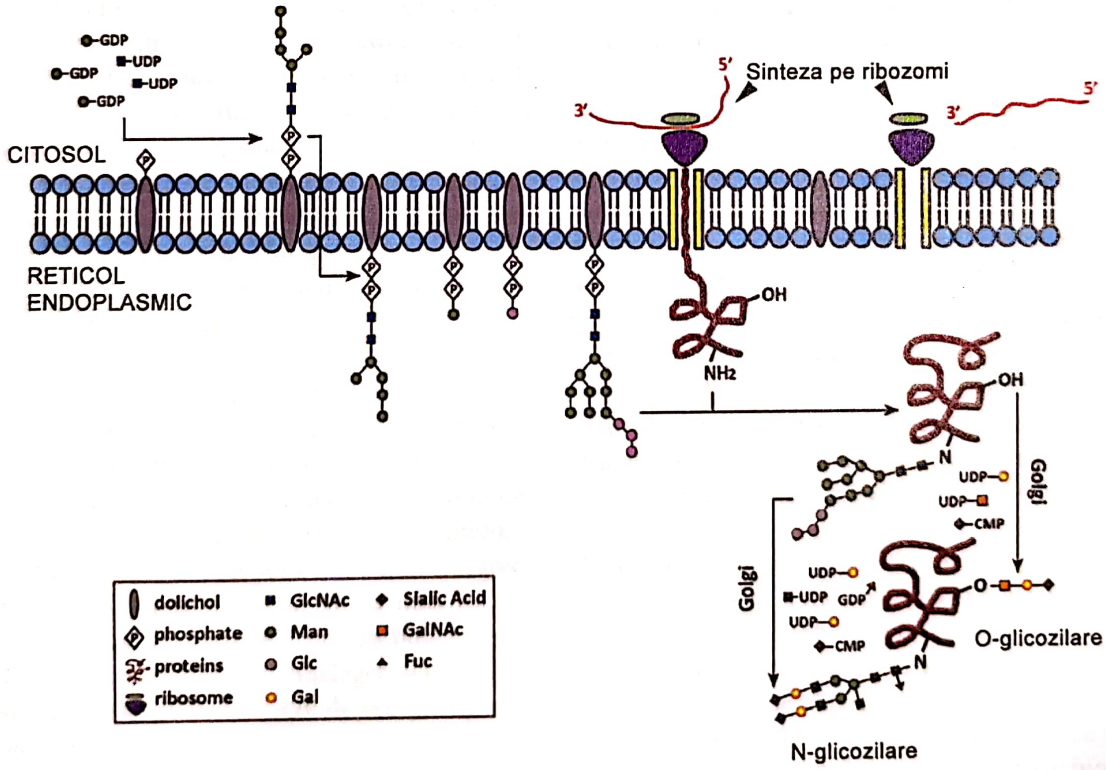


Figura 8.91. *Sinteza proteinelor are loc pe ribozomi ataşaţi de membrana reticulului endoplasmatic astfel încât lanţul polipeptidic nou sintetizat care urmează să fie modificat post-translaţional poate trece direct printr-un por al membranei reticulului endoplasmatic pe faţa internă a reticulului endoplasmatic unde au loc o serie de modificări prin adiţii covalente de resturi glucidice sub acţiunea unor enzime specifice, glicosiltransferaze (GTs).*

Scanned with OKEN Scanner

„This year's Nobel Prize in Chemistry awardsVenkatraman RamakrishnanMRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UnitedKingdom, Thomas A. SteitzYale University, New Haven, CT, USA, Ada E. Yonath, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel... for having shown what the ribosome looks like and how itfunctions at the atomic level. All three have used a methodcalled X-ray crystallography to map the position for each andevery one of the hundreds of thousands of atoms that make upthe ribosome ...An understanding of the ribosome's innermost workings is important for a scientific understanding of life. This knowledge can be put to a practical and immediate use; many of today's antibiotics cure various diseases by blocking the function ofbacterial ribosomes. Without functional ribosomes, bacteria cannot survive. This is why ribosomes are such an important target for new antibiotics. This year's three Laureates have all generated 3D models that show how different antibiotics bind to the ribosome. These models are now used by scientists in order to develop new antibiotics, directly assisting the saving of lives and decreasing humanity's suffering".

Scanned with OKEN Scanner

Profilul genetic şi semnatura genetică

Studiile genomice oferă oamenilor de ştiinţă metode rapide de analiză a genelor şi a produsului acestora. Prima tehnică a fost aceea a metodei de secvenţiere. Un mare număr de genoame ale diferitelor organisme au fost secvenţiate cu ajutorul acestei tehnici. Genomica a avansat astăzi către studiul expresiei genice şi funcţiei acestora.

În ultimii 5-10 ani genomica, proteomica şi tehnologia microarray au schimbat fundamental viziunea noastra în ceea ce priveşte studiul bazelor moleculare ale bolilor fundamentale. De exemplu, în ceea ce priveşte cercetarea în cancer s-au deschis noi posibilităţi terapeutice în clasificarea tumorală şi în prognoza evolutiei bolii. Un nou domeniu interesant este cel al metabolomicii şi tehnicile de laborator ce folosesc chipuri de ADN care combină miniatura cu automatizarea în vederea studierii metabolismelor.

În anii care urmează vom vedea că studiul reţelelor biologice va domina cercetarea în fiziologie. Acumularea imensă de date de genomica vor fi utilizate în programe computerizate pentru a simula procesele biologice. Dezvoltată iniţial pentru analiza genomului, bioinformatica cuprinde acum o gamă largă de aspecte în biologie, de la studiul genelor la biologia integrată (combinarea diferitelor date de la gena la metabolit). Acesta este sistemul biologic ce are ca scop studiul organismelor biologice ca întreg. În medicină, rezultatele ştiinţifice şi biotehnologiile aplicate ce decurg din genomică vor fi utilizate pentru predicţia efectivă a bolilor şi a riscului asociat medicamentelor. Medicina preventivă şi terapia medicală va fi personalizată.

Aplicaţiile largi ale genomicii în medicina personalizată va necesita asocierea profilul expresiei genice cu diagnosticul, tratamentul şi datele clinice contribuind astfel la descoperirea şi fabricarea unor noi medicamente. Suntem probabil la sfârşitul începutului mai degraba decât la începutul finalului, deoarece genomica va schimba biologia într-o măsura mai mare decât a fost prevazut anterior. În plus este necesară o mai bună şi completă înţelegere a genomicii înainte ca aceasta să beneficieze de acceptul public în totalitate.

Genomica şi medicina personalizată

Medicina genomică, ce utilizează informaţia din genom şi compuşii derivaţi ai acestuia (ARN, proteine şi metaboliţi) pentru a ghida decizia medicală este componenta cheie a medicinei personalizate ce este un domeniu ce avansează rapid şi se bazează pe informaţii personale unice genetice, clinice şi de mediu. Medicina personalizată are ca scop analiza de risc a sănătăţii, istoricul familial şi suportul deciziei clinice în ceea ce priveşte riscul complex şi predictibilitatea evoluţiei bolilor. Împreună cu informaţia genomică, aceste instrumente vor permite schimbarea unei paradigme cu o abordare cuprinzătoare ce va identifica riscul individual şi vor ghida managementul clinic şi luarea deciziilor, toate acestea fiind baza unei abordări efective mult mai documentate a îngrijirii pacientului.

Analiza riscului bazată pe ADN pentru bolile comune complexe, semnătura moleculară pentru diagnosticul şi prognosticul cancerului şi a terapiei ghidate genomic precum şi selectarea dozei sunt doar câteva exemple importante pentru care genomica a permis deja dezvoltarea unor programe de îngrijire personalizate. În plus, informaţiile genomului individual, reprezintă o revoluţie socială şi informaţională în rândul consumatorilor ce va afecta incontestabil luarea deciziilor în îngrijirile medicale.

Acestea, precum şi alte descoperiri ştiinţifice îşi construiesc propria cale de la genomică la clinică, aplicaţia în totalitate a genomicii şi a medicinei personalizate în îngrijirea medicală va necesita schimbări dramatice în ceea ce priveşte legislatia şi politica de reglementare legislativă cu privire la intimitate, pentru ca acestea să poată fi integrate în sistem. Apar astfel o serie de provocări atât în ceea ce priveşte domeniul ştiinţific cât şi pe cel al politicilor viitoare de sănătate în îngrijirea medicală personalizată. Oricum ştiinţa din spatele medicinei genomice este solidă şi practica medicală este bazată pe dovezi.

Fluxul de date recent din genomică a determinat apariţia unui nou domeniu, acela al bioinformaticii care reprezintă o combinaţie a biologiei şi informaticii. Scopul bioinformaticii este acela de a înţelege şi organiza informaţia la scară largă. Bioinformatica este acum o ştiinţă per se ce necesită expertiza specializată ce poate fi dificil de înţeles de către biologi sau medici.

Scanned with OKEN Scanner

Partea a II-a

METABOLISME. BIOCHIMIE INTEGRATIVA. Patobiochimie.

Scanned with OKEN Scanner

UTILIZAREA NUTRIENȚILOR ÎN ORGANISMUL UMAN: INTRODUCERE IN CĂILE METABOLICE

Energia este prinsă în legăturile chimice ale moleculelor de nutrienți .
Cum este apoi utilizabilă pentru funcțiile celulare și a procesele de biosinteză ?
De unde vine energia care face posibilă viața?
Energia este stocată în legăturile chimice ale moleculelor de nutrienți.
Cum se extrage energia din nutrienti si cum este apoi utilizată pentru îndeplinirea funcțiilor celulare și a proceselor de biosinteză ?
Oamenii obțin energie din cele trei clase de molecule cu potential energetic: glucide , lipide și proteine. Energia potențială chimică a acestor molecule este transformată în alte forme, cum ar fi: energie chimică termică, cinetică și altele.

Nutrienții metabolismului uman

Carbohidrații, lipidele și proteinele sunt principalele componente ale alimentelor și servesc drept molecule de combustie pentru organismul uman. Digerarea (rupere în bucăți mai mici) a acestor substanțe nutritive în tractul digestiv și absorbția ulterioară (intrarea în fluxul sanguin) a produselor finite digestive, face posibilă transformarea energiei chimice potențiale a alimentelor în energie utilă pentru țesuturi și celule.

Principalele produse finale absorbite din digestia alimentelor sunt *monozaharidele,* în principal glucoza (din glucide); *monoacilglicerolul și acizii grași cu catenă lungă* (din lipide); *peptide mici și aminoacizi* (din proteine). Odată ajunse în fluxul sanguin, celulele pot metaboliza aceste substanțe nutritive.

Se cunoaste de mult timp că aceste trei clase de molecule sunt surse de combustibil pentru metabolismul uman, dar este o concepție greșită (mai ales in rândul studenților), că celulele umane folosesc numai glucoza ca sursă de energie. Această dezinformare poate rezulta din modul in care majoritatea manualelor explica metabolismul energetic, subliniind glicoliza (calea metabolică pentru degradarea glucozei) și omițând acizii grași sau oxidarea aminoacizilor. In capitolele care urmează vom discuta despre modul în care cele trei elemente nutritive (*glucide, proteine și lipide*) sunt metabolizate în celulele umane într-un mod care ar putea ajuta la evitarea acestui punct de vedere distorsionat despre metabolism.

Scurt istoric al energiei metabolice

Pe parcursul secolului al XVIII-lea, studiile inițiale dezvoltate de Joseph Black, Joseph Priestley, Carl Wilhelm Scheele, și Antoine Lavoisier, au jucat un rol deosebit în identificarea a două gaze, *oxigenul si dioxidul de carbon*, care sunt esențiale pentru metabolismul energetic.

Lavoisier, nobilul francez care deține titlul de "părintele chimiei moderne", a caracterizat compoziția aerului pe care îl respirăm și a efectuat primele experimente privind conservarea și transformarea energiei în organism. Una dintre principalele întrebări a lui Lavoisier în acel moment a fost:

- *Care este rolul oxigenului în combustie la nivelul procesului de respirație în organismele vii?*

Cu ajutorul unui calorimetru cu care a realizat măsurări cantitative pe cobai și mai târziu pe el și asisten-

Scanned with OKEN Scanner

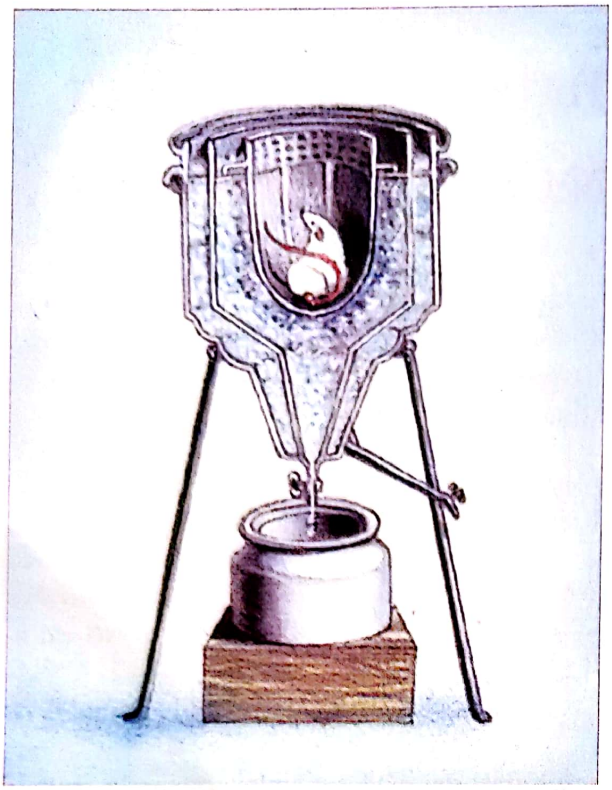


Fig. 1i. Experimentul lui Lavoisier

tul său, el a demonstrat că respirația este o formă lentă de combustie. Bazat pe conceptul că oxigenul arde carbonul din produsele alimentare, Lavoisier a arătat că aerul expirat conține dioxid de carbon care se formează în reacția dintre oxigenul (prezent în aer) și molecule organice din interiorul organismului.

Lavoisier a observat, de asemenea, că organismul produce căldura în mod continuu în timpul respirației (Fig. 1i).

În mijlocul secolului al XIX-lea, Justus Liebig a efectuat studii pe animale și a observat că proteinele, carbohidrații și grăsimile sunt oxidate în organism. În cele din urmă, contribuțiile de pionierat în cazul metabolismului și nutriției au venit din studiile protejatului lui Liebig, Carl von Voit, si a unui student talentat, Max Rubner. Voit a demonstrat că un consum de oxigen este rezultatul metabolismului celular, în timp ce Rubner a măsurat valoarea energetică majoră a anumitor produse alimentare, în scopul de a calcula valorile calorice, care încă sunt utilizate în prezent. De exemplu, carbohidrații și proteinele produc aproximativ *4 kcal / g*, în timp ce lipidele pot genera până la *9 kcal/g*. Observațiile lui Rubner au demonstrat că, pentru un animal aflat în stare de odihnă, producția de căldură a fost echivalentă cu căldură de eliminare, confirmând că legea conservării energiei, implicată în primele experimente ale lui Lavoisier, se aplică de asemenea si organismelor vii.

Prin urmare, ceea ce face posibilă viața este transformarea energiei chimice din moleculele combustibile printr-o serie de reacții în interiorul unei celule cu participarea oxigenului, în alte forme de energie: chimică, de mișcare (cinetică) și termică. (Fig. 2i).

Oxidarea carbohidraților, proteinelor și grăsimilor în ciclul acizilor tricarboxilici

Transformarea *energiei chimice* a moleculelor de combustie în *energie utilă* este strict regulată, iar mai mulți factori controlează utilizarea glucozei, acizilor grași și a aminoacizilor în celule in mod diferit pentru că, nu toate celulele au echipamentul enzimatic și compartimentele celulare adecvate pentru a utiliza toate cele trei molecule de combustibil. De exemplu, celulele sanguine roșii sunt lipsite de mitocondrii și, prin urmare, sunt în imposibilitatea de a oxida atât acizi grași, cât și aminoacizi, bazându-se doar pe glucoză pentru sinteza de ATP. În plus, chiar și în celulele care pot utiliza toate substanțele nutritive, tipul de substrat alimentar care este oxidat, se modifică în funcție de situația fiziologică a celulei, cum ar fi starea de abundentă calorică (alimentare) și pentru stările de repaus alimentar.

Semnale diferite dictează modul în care celulele se pot adapta la fiecare situație, cum ar fi *hormonii*, care pot exercita efecte puternice prin comutarea de activități enzimatice cheie în cateva secunde, sau modul în care acestea pot modula profilul expresiei genelor, schimbând întregul profil metabolic celular. Prin urmare, trebuie să înțelegem căile metabolice ca evenimente integrate, care controlează

Scanned with OKEN Scanner

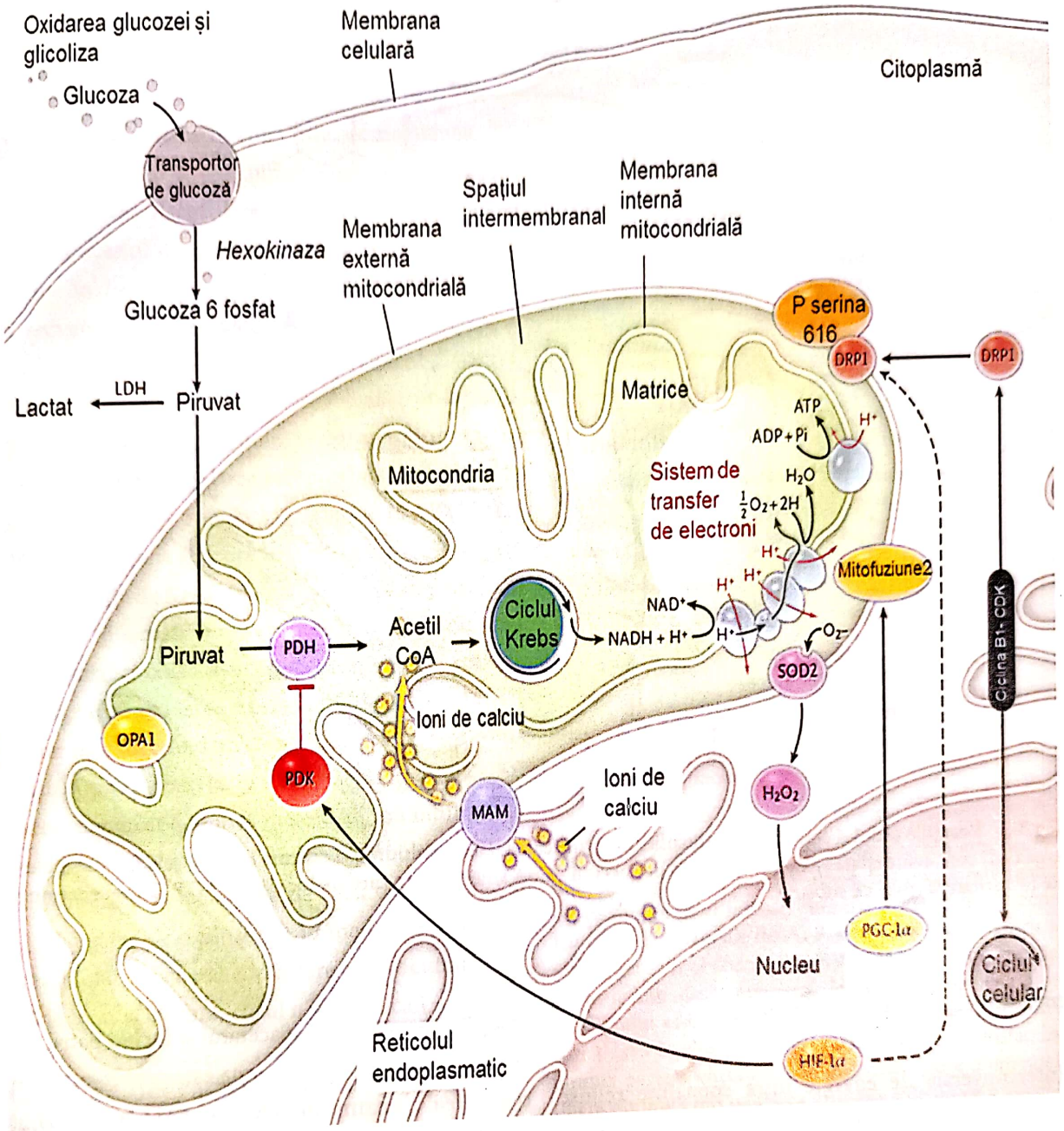


Fig. 2i. Metabolismul mitocondrial. Membrana mitocondrială externă permeabila pentru protoni și membrana internă impermeabilă pentru protoni, sunt delimitate de spațiul intermembranal în care ionii de hidrogen (H^+) sunt pompați de lantul transportor de electroni si protoni. În interiorul membranei mitocondriale se găsește o matrice care conține ADN-ul mitocondrial, proteine și ribozomi. Lantul transportor de electroni si protoni și ATP sintetaza sunt localizate in cristele mitocondriale. Piruvatul generat în citosol de glicoliză, fie intră in mitocondrii si participă la metabolismul oxidativ sau rămâne în citosol și este transformat în lactat de lactat dehidrogenază (LDH), când metabolismul mitocondrial este inhibat. În interiorul mitocondriei piruvatul este convertit în acetil coenzima A (CoA), reacție catalizată de piruvat dehidrogenază (PDH), un regulator major al metabolismului oxidativ. PDH este inhibată de piruvat dehidrogenaz-kinaza (PDK) sau activată de calciul mitocondrial. Acetil CoA alimentează ciclul Krebs care generează agenti reducatori (NADH și $FADH_2$), care participă la sistemul de transfer de electroni pentru a reduce oxigenul molecular. Acest flux de electroni produce un gradient chemiosmotic de ioni de hidrogen care participă la sinteza ATP-ului. În plus, fluxul de electroni generează specii reactive de oxigen, cum ar fi anionul superoxid ($O2^-$), care este convertit în peroxid de hidrogen (H_2O_2) de enzima superoxid dismutază 2 (SOD2).

Scanned with OKEN Scanner

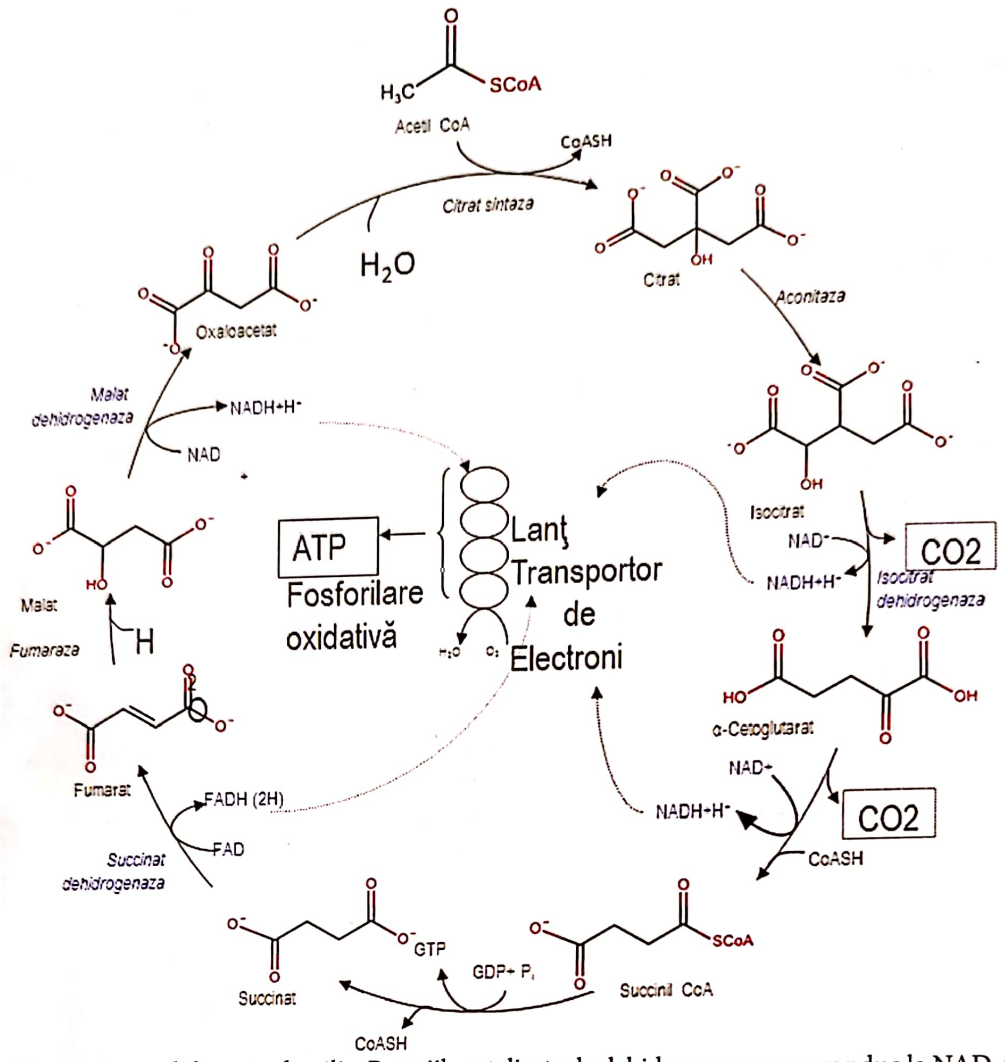


Fig.3i. Reacțiile ciclului acidului tricarboxilic; Reacțiile catalizate de dehidrogenaze care conduc la NAD + și reducerea FAD sunt evidențiate . Reacția catalizată de succinil - CoA sintetaza (în care are loc sinteza GTP) este un exemplu de fosforilare la nivel de substrat.

producerea și conservarea energiei.

Interconversia de energie între coenzime reduse și O_2 direcționează sinteza ATP, dar cum (și unde) sunt NADH și FADH2 reduse. În respirația aerobă sau aerobioză, toate produsele de degradare a nutrienților participă la o cale centrală în metabolism, ciclul acizilor tricarboxilici (TCA). În această cale, gruparea acetil din acetil-CoA rezultată din catabolismul glucozei, a acizilor grași, dar și a unor aminoacizi este complet oxidat la CO_2 cu reducerea concomitentă a coenzimelor transportatoare de electroni (NADH și $FADH_2$). Compus din opt reacții, ciclul începe cu condensarea *acetil-CoA* și *oxaloacetat* pentru a genera citrat (Fig. 3i). Următoarele șapte reacții regenerează oxaloacetatul și includ patru reacții de oxidare în care energia este conservată prin reducerea coenzimelor NAD^+ și FAD la NADH și $FADH_2$, a căror electroni vor fi apoi transferate la O_2 prin intermediul lantului transportor de elctroni. În plus, o moleculă de GTP sau de ATP se formează direct ca un exemplu de fosforilare la nivel de substrat. În acest caz, hidroliza legăturii tioesterice a moleculei de succinil-CoA, care are loc concomitent cu fosforilarea enzimatică, este cuplată la transferul unei grupări fosfat legat de enzimă la GDP sau ADP. Foarte important, cu toate că O_2 nu participa direct la aceasta cale, ciclul acizilor tricarboxilici funcționează numai în condiții aerobe, deoarece formele oxidate de NAD^+ și FAD sunt regenerate numai în

Scanned with OKEN Scanner

lantul transportor de elctroni. De asemenea, demn de remarcat este faptul că intermediarii acizilor tricarboxilici pot fi de asemenea utilizați ca precursori ai diferitelor procese biosintetice.

Ciclul acizilor tricarboxilici este, de asemenea, cunoscut ca ciclul Krebs, numit după descoperitorul său, Sir Hans Krebs. Krebs și-a bazat concepția sa asupra acestui ciclu pe patru observații principale făcute în 1930. Prima, a fost descoperirea în 1935 a secvenței de reacții de la *succinat la fumarat si malat*, la *oxaloacetat* de către Albert Szent-Györgyi, care a arătat că acești acizi dicarboxilici prezenți în țesuturile animale, stimulează consumul de O_2. A doua, a fost descoperirea secvenței de la *citrat la alfa-cetoglutarat* si apoi la *succinat*, în 1937, de Carl Martius și Franz Knoop. În continuare a fost făcută o observație de Krebs însuși, care lucrând pe culturi de tesut muscular, a observat că adăugarea de acizi tricarboxilici chiar și în concentrații foarte scăzute promovează oxidarea unei cantități mult mai mari de piruvat sugerând un *efect catalitic* al acestor compuși. A patra observație a fost făcută tot de Krebs, care a remarcat faptul că malonatul, un inhibitor al succinat dehidrogenazei, a inhibat complet oxidarea piruvatului prin adăugarea de acizi tricarboxilici și că adăugarea de oxaloacetat în mediu de reacție în această stare a generat *citrat*, care astfel acumulat inchide in mod elegant, ciclul natural al căii.

Căile de degradare a nutrienților. Glicoliza

Atunci când Krebs a propus ciclul acizilor tricarboxilici în 1937, acesta a crezut că citratul a fost sintetizat din oxaloacetat și piruvat (sau un derivat al acestuia). Abia după descoperirea de către Lipmann a *coenzimei A* în 1945 și activitatea ulterioară a unor biochimisti celebri ca R. Stern, S. Ochoa și F. Lynen a devenit clar faptul că molecula de acetil-CoA a donat gruparea sa acetil, oxaloacetatului. (Fig. 4i). Până în acest moment, ciclul acidului tricarboxilic a fost văzută doar ca o cale de oxidare a carbohidraților.

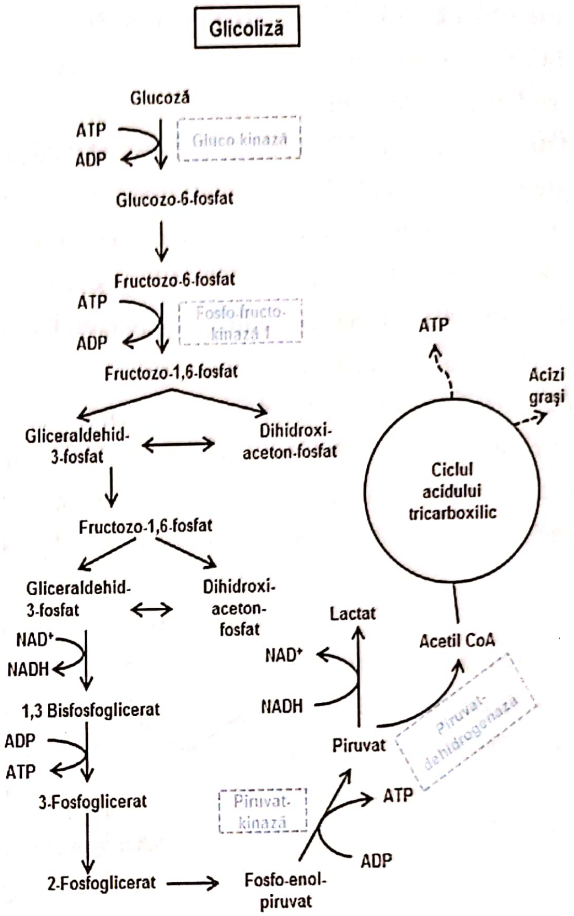


Fig. 4i. Glicoliza; O moleculă de glucoză este degradată în două molecule de piruvat. Interesant este faptul că, în timpul fazei inițiale, energia este consumată pentru că două molecule de ATP sunt consumate pentru a activa glucoza și fructoza-6-fosfat. O parte din energia derivată din descompunerea legăturii fosfoanhidridice a ATP-ului este conservată pentru formarea legăturilor fosfat-ester în glucozo-6-fosfat și fructoză-1,6-bifosfat. În a doua parte a glicolizei, cea mai mare parte a energiei libere obținute din oxidarea grupării aldehidice a gliceraldehid 3-fosfat-ului (G3P) este conservat sub formă de grupare acil-fosfat din 1,3- bisfosfoglicerat (1,3-BPG) , care conține energie liberă mare. Apoi, o parte din energia potențială a 1,3BPG, eliberată în timpul conversiei sale la 3-fosfoglicerat, este cuplată la fosforilarea ADP-ului la ATP. A doua reacție în care are loc sinteza ATP-ul este conversia fosfoenolpiruvat (PEP) la piruvat. PEP este un compus de înaltă energie, datorită legăturii sale fosfat ester, și, prin urmare, reacția de conversie a PEP la piruvat este cuplată cu fosforilarea ADP-ului. Acest mecanism de sinteză a ATP-ul este numit fosforilare la nivel de substrat. Pentru oxidarea completă, moleculele de piruvat generate în glicoliză sunt transportate la nivelul matricei mitocondriale, acolo unde urmează să fie transformate în grupări acetil-CoA într-o reacție catalizată de complexul multienzimatic piruvat dehidrogenaza.

Scanned with OKEN Scanner

Calea de oxidare a acizilor grași este cuplată cu ciclul acizilor tricarboxilici

În 1904, Knoop a arătat într-un experiment clasic, că oxidarea acizilor grași este un proces prin care unitățile cu doi atomi de carbon au fost îndepărtate progresiv din molecula de acid gras la nivelul capătului carboxilic. Procesul constă din patru reacții și generează *acetil-CoA* și molecula de *acil-CoA* scurtată cu doi atomi de carbon, cu reducerea concomitentă a FAD cu enzima acil-CoA dehidrogenaza și NAD^+ de către β-hidroxiacil-CoA dehidrogenază. Aceasta cale este cunoscută sub numele de *β-oxidare*, deoarece atomul de β de carbon este oxidat înaintea clivării legăturii dintre atomii de carbon α și β (Fig. 5i).

Cele patru etape ale β - oxidarii se repetă până când acil-CoA este în întregime oxidat la acetil - CoA , care apoi va intra în ciclul acizilor tricarboxilici. În 1950, s-au făcut o serie de experimente în care s-a verificat că atomii de carbon ai acizilor grași sunt identici cu cei care au apărut în acizii din ciclul Krebs.

Transaminarea aminoacizilor/dezaminarea contribuie la ciclul TCA

Două puncte trebuie să fie luate în considerare în ceea ce privește utilizarea aminoacizilor drept combustibil în metabolismul energetic. Primul este prezența *azotului* în compoziția aminoacizilor, care

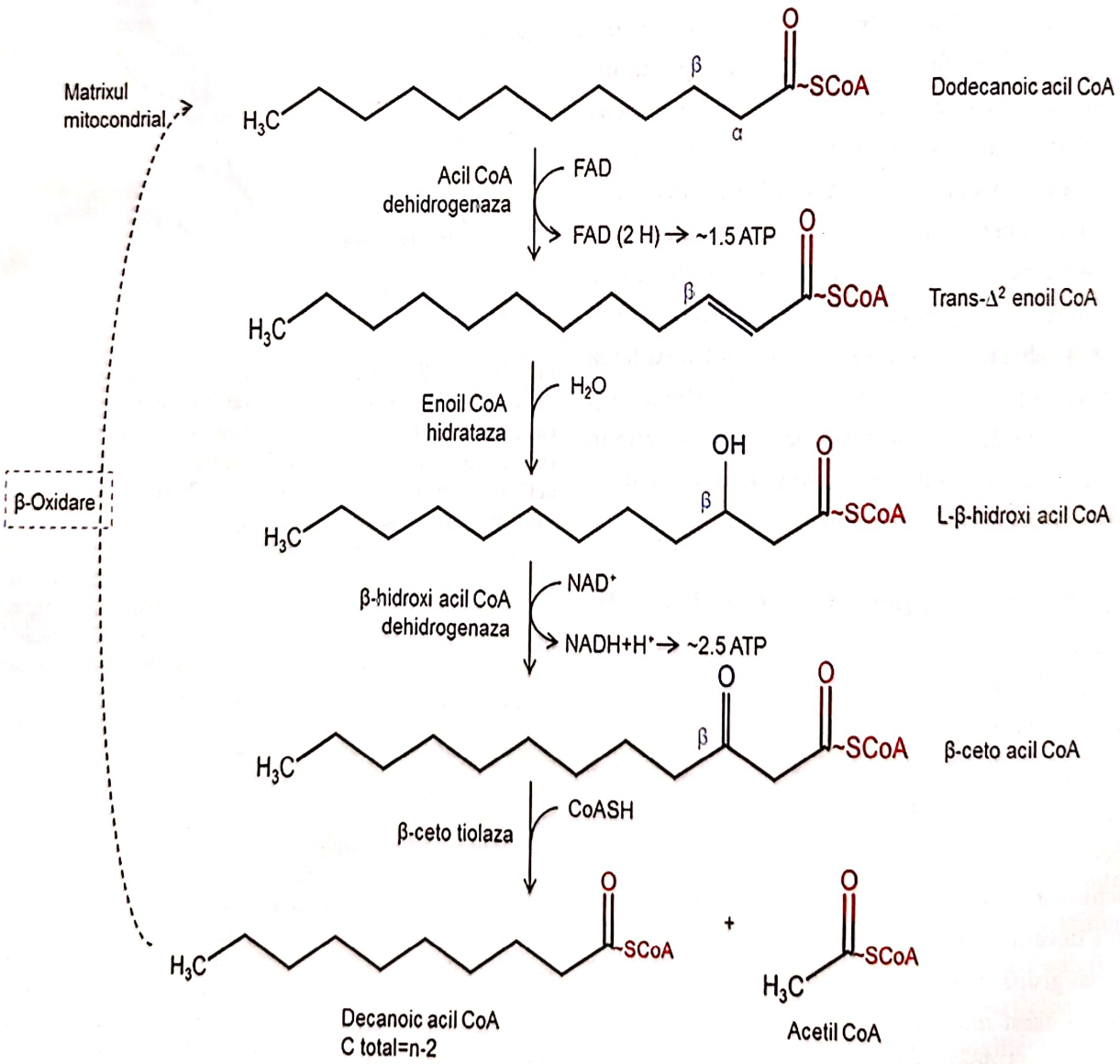


Fig.5i. Alimentarea ciclului Krebs prin oxidarea acizilor grași cu catenă lunga

Scanned with OKEN Scanner

trebuie îndepărtat înainte ca aminoacizi să devină metabolic utili. Celălat este acela că există cel puțin *douăzeci de aminoacizi* diferiți, fiecare dintre aceștia necesitând o cale diferită de degradare.

Este important să menționăm două tipuri de reacții care implică aminoacizi: transaminarea și dezaminarea. În primul tip de reacție, enzimele aminotransferaze vor converti aminoacizii la *α-cetoacizii* corespunzători prin transferul grupării amino a unui aminoacid la un α-cetoacid. Această reacție permite aminoaciziilor să fie interconvertibili. Al doilea tip de reacție, dezaminarea, îndepărtează gruparea amino a aminoacidului sub formă de *amoniac*. În ficat, prin dezaminarea oxidativă a glutamatului rezultă α-ceto-glutarat (un intermediar al ciclului TCA) și amoniac, care este transformat în uree și excretat. Reacțiile de dezaminare în alte organe formează amoniac care este în general încorporat în glutamat pentru a genera glutamina, moleculă care este transportatorul principal al grupărilor amino în sânge. Astfel, toți aminoacizii, prin reacțiile de transaminare/dezaminare pot fi transformați în intermediari ai ciclului TCA, direct sau prin conversie la piruvat sau acetil-CoA.

Conservarea energiei: Mecanismele sintezei ATP

Metabolismul energetic este procesul general prin care celulele vii dobândesc și folosesc energia necesară pentru a rămâne în viață, pentru creștere și reproducere.

- Cum este eliberată energia din legăturile chimice ale moleculelor de nutrienți si stocata pentru a putea fi utilizată de către celule?

Răspunsul se află în cuplarea dintre oxidarea nutrienților și sinteza compușilor de energie înaltă, în special ATP-ul, care funcționează ca principalul purtător de energie chimică în toate celulele.

Există două mecanisme de sinteză a ATP-ului:
1. fosforilare oxidativă, procesul prin care ATP-ul este sintetizat din ADP și fosfat anorganic (Pi), care are loc în mitocondrie; și,
2. fosforilare la nivel de substrat, în care ATP-ul este sintetizat prin transferul de grupări fosforil de mare energie de la compuși de mare de energie, la ADP. Acesta din urmă are loc atât în mitocondrie, în ciclul acizilor tricarboxilici (TCA) cât și în citoplasmă, în decursul glicolizei. În cele ce urmează, ne concentrăm asupra fosforilării oxidative, mecanismul principal al sintezei ATP-ului în cele mai multe celule.

Fosforilarea oxidativă: Mecanismul principal al sintezei ATP-ului în celulele umane

Reacțiile metabolice sunt procese de transformare a energiei, în care reacțiile de oxidare-reducere sunt vitale pentru sinteza de ATP (Fig. 6i). În aceste reacții, electronii îndepărtați prin oxidarea moleculelor de combustie, sunt transferti către două coenzime majore purtătoare de electroni, dinucleotida nicotinamidadeninei (NAD^+) și dinucleotida flavin adeninei (FAD), care sunt transformate în formele lor reduse, NADH și $FADH_2$.

Fosforilarea oxidativă depinde de transportul de electroni de la NADH sau $FADH_2$ la O_2, cu formare de H_2O. Electronii sunt "transportați" printr-o serie de complexe de proteine localizate în membrana mitocondrială internă, care conțin grupe atașate chimice (flavine, grupări de fier-sulf, hem, și ioni de cupru) capabile să accepte sau să doneze unul sau mai mulți electroni. Aceste complexe de proteine, cunoscut sub numele de lanț purtător de electroni (sistem de transfer de electroni, STE), permit distribuirea energiei libere între coenzimile reduse și O_2 și conservarea mai eficientă a energiei.

Electronii sunt transferați de la NADH la O_2 prin intermediul a trei complexe de proteine: *dehidrogenaza NADH, citocrom reductaza și citocromoxidaza*. Transportul de electroni între complexe se produce prin alți *purtători de electroni mobili, ubichinona și citocromul c*. FAD este legat de succinat dehidrogenaza din ciclul acizilor tricarboxilici și

Scanned with OKEN Scanner

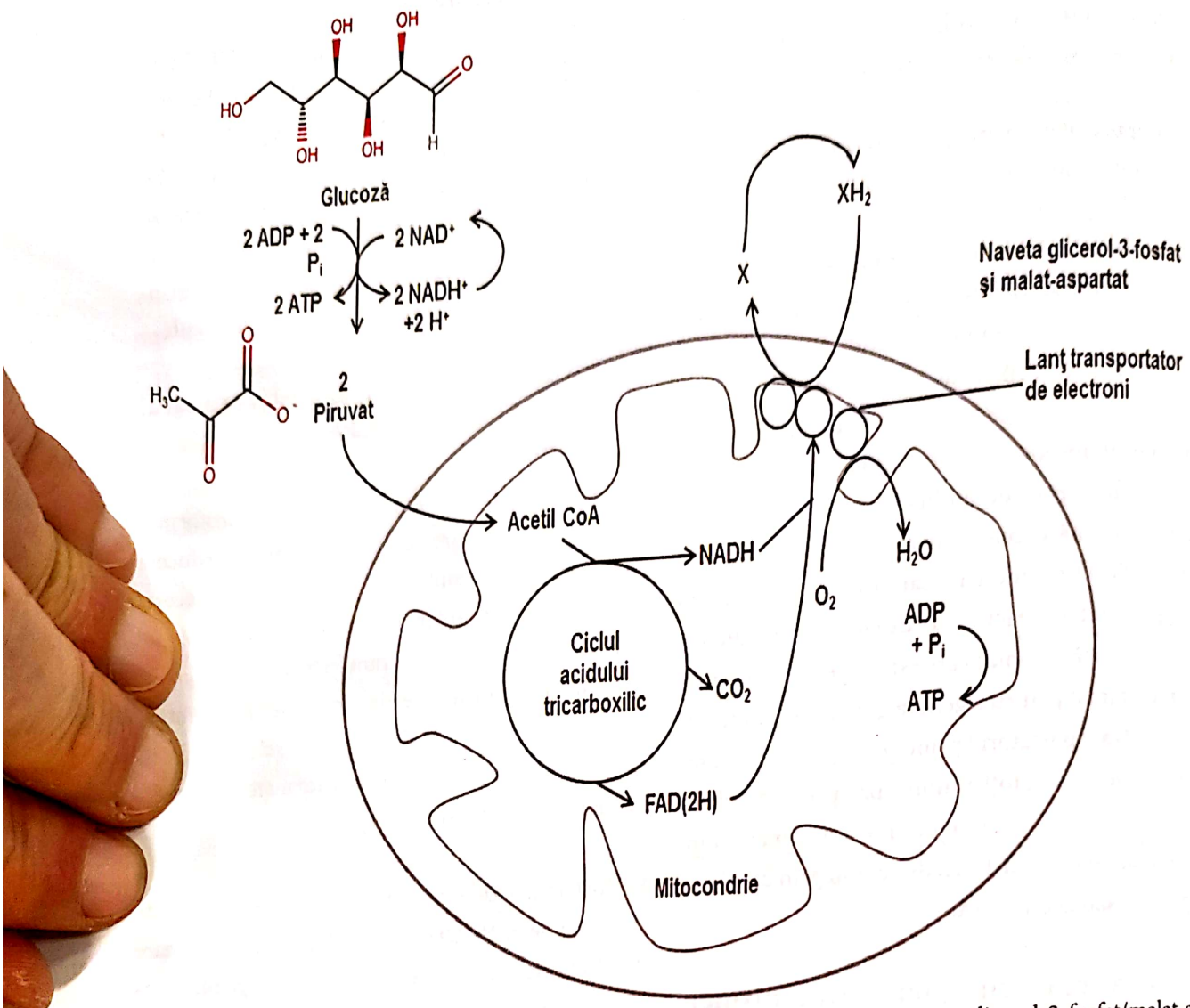


Fig.6i. Sinteza de ATP în lanțul respirator este susținută din citoplama de glicoliză și naveta glicerol-3-fosfat/malat-aspartat

de o altă enzimă, acil-CoA dehidrogenaza din calea oxidarii acizilor grași.

În timpul reacțiilor catalizate de aceste enzime, FAD se reduce la $FADH_2$, ai cărui electronii sunt apoi transferați la O_2 prin intermediul *citocrom reductazei* și *citocrom-oxidazei*, așa cum este descris pentru electronii proveniți din NADH dehidrogenaza.

Transferul de electroni prin lanțul purtător de electroni este asociat cu pomparea protonilor (H^+) din matricea mitocondrială în spațiul intramembranar al mitocondriei. Aceste observații l-au condus pe Peter Mitchell, în 1961, să propună ipoteza sa chimioosmotică, revoluționară. În această ipoteză, Mitchell a propus că pompare ionilor de H^+ generează ceea ce el a numit forța motrice protonică, o combinație a gradientului de pH de-a lungul membranei mitocondriale și a potențialului electric transmembranar, care va determina sinteza ATP din ADP și Pi. ATP-ul este sintetizat în complexul ATP sintaza, prin care protonii H^+ reven în matricea mitocondrială.

Paul Boyer a fost cel care a descris primul, mecanismul catalitic de sinteză a ATP-ului și a arătat că (i) energia generată de gradientul ionilor de H^+ a fost

Scanned with OKEN Scanner

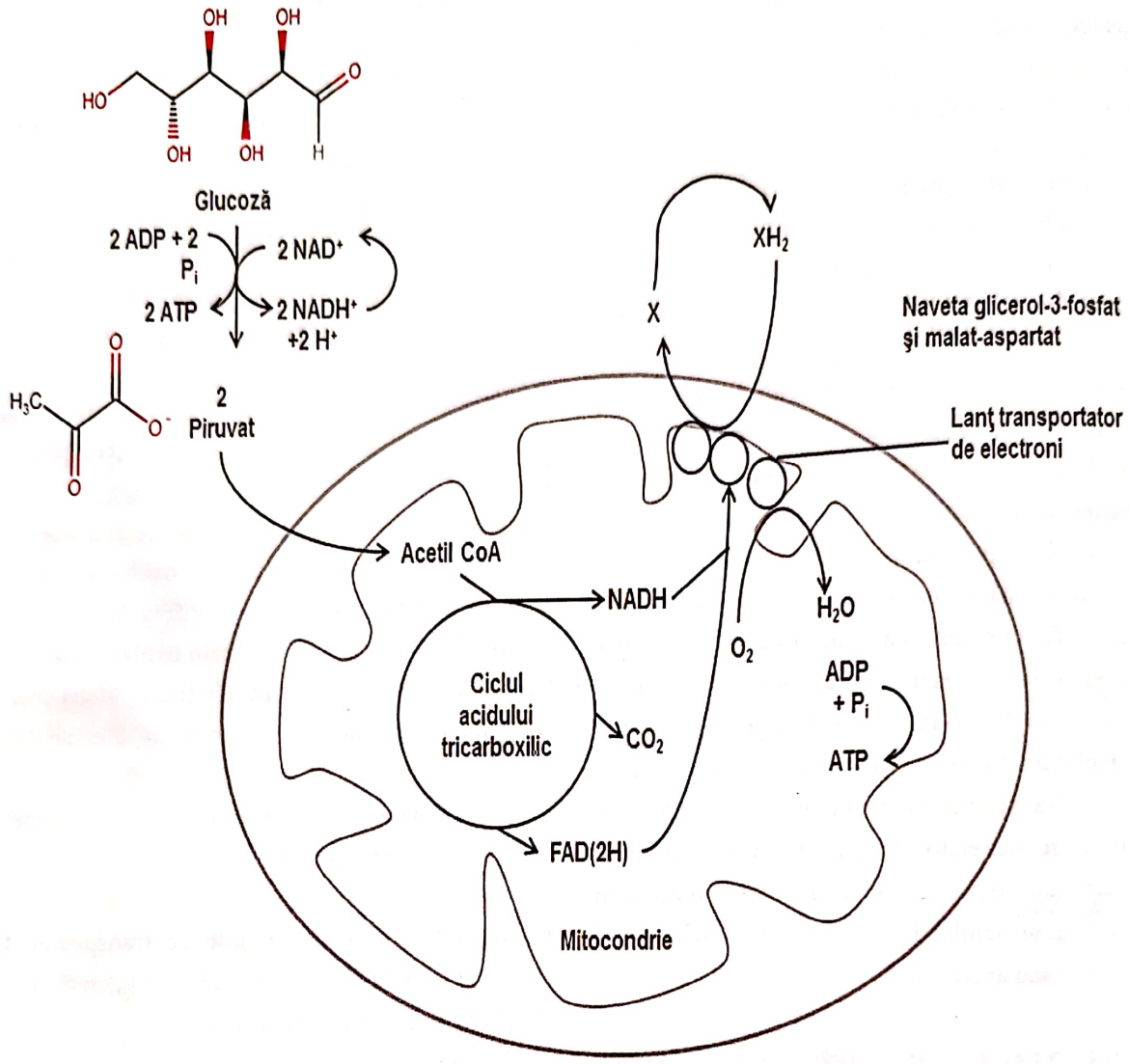


Fig.6i. Sinteza de ATP în lanțul respirator este susținută din citoplama de glicoliză și naveta glicerol-3-fosfat/malat-aspartat

de o altă enzimă, acil-CoA dehidrogenaza din calea oxidarii acizilor grași.

În timpul reacțiilor catalizate de aceste enzime, FAD se reduce la $FADH_2$, ai cărui electronii sunt apoi transferați la O_2 prin intermediul *citocrom reductazei* și *citocrom-oxidazei*, așa cum este descris pentru electronii proveniți din NADH dehidrogenaza.

Transferul de electroni prin lanțul purtător de electroni este asociat cu pomparea protonilor (H^+) din matricea mitocondrială în spațiul intramembranar al mitocondriei. Aceste observații l-au condus pe Peter Mitchell, în 1961, să propună ipoteza sa chimioosmotică, revoluționară. În această ipoteză, Mitchell a propus că pompare ionilor de H^+ generează ceea ce el a numit forța motrice protonică, o combinație a gradientului de pH de-a lungul membranei mitocondriale și a potențialului electric transmembranar, care va determina sinteza ATP din ADP și Pi. ATP-ul este sintetizat în complexul ATP sintaza, prin care protonii H^+ reven în matricea mitocondrială.

Paul Boyer a fost cel care a descris primul, mecanismul catalitic de sinteză a ATP-ului și a arătat că (i) energia generată de gradientul ionilor de H^+ a fost

Scanned with OKEN Scanner

utilizată pentru eliberarea ATP-ului din situsul catalitic, si (ii) cele trei situsuri active ale enzimei au lucrat cooperativ în așa fel încât ATP-ul de la un situs nu a putut fi eliberat decât dacă ADP și Pi au fost disponibile pentru a se lega la un alt situs de pe enzimă.

Referințe

Blaxter, K. Energy Metabolism in Animals and Man. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

Holmes, F. L. Lavoisier and the Chemistry of Life. Madison: University of Wisconsin Press, 1985.

Krebs, H. Nobel Prize Lecture (1953). Nobelprize. org, 2010.

Kresge, N., Simoni, R. D., & Hill, R. L. ATP synthesis and the binding change mechanism: The work of Paul D. Boyer. Journal of Biological Chemistry 281, e18 (2006).

Lusk, G. The Elements of the Science of Nutrition, 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1931.

Luz, M. R. M. P. Glucose as the sole metabolic fuel: A study on the possible influence of teachers' knowledge on the establishment of a misconception among Brazilian high school stucents. Advances in Physiological Education 32, 225–230 (2008) doi:10.1152/advan.00050.2007.

Luz, M. R. M. P. et al. Glucose as the sole metabolic fuel: The possible influence of formal teaching on the establishment of a misconception about the energy-yielding metabolism among Brazilian students. Biochemistry and Molecular Biology Education 36, 407–416 (2008) doi:10.1002/bmb.20235.

Oliveira, G. A. et al. Students' misconception about energy yielding metabolism: Glucose as the sole metabolic fuel. Advances in Physiological Education 27, 97–101 (2003 doi:10.1152/advan.00009.2003.

Da Poian, A. T., El-Bacha, T. & Luz, M. R.M.P. (2010) Nutrient Utilization in Humans: Metabolism Pathways. Nature Education 3(9):11

Scanned with OKEN Scanner

9. METABOLISMUL GLUCIDIC

Glucidele sunt molecule biologice alcătuite din carbon (C), hidrogen (H) și oxigen (O). De obicei raportul dintre numărul atomilor de hidrogen și oxigen este de 2:1 (ca la apa, H_2O)), cu alte cuvinte au formula empirică Cm (H_2O) n (unde m poate fi diferit de n). Glucidele mai sunt numite și carbohidrați sau hidrați de carbon, dar din punct de vedere structural sunt polihidroxialdehide sau polihidroxicetone. Termenul de „glucide" sau „zaharide" este des întâlnit în biochimie și cuprinde grupul de zaharuri, amidon și celuloză. Clasa glucidelor este impărțită în patru grupe: monozaharide, dizaharide, oligozaharide și polizaharide. În general, monozaharidele și dizaharidele (carbohidrați cu greutate moleculară mai mică) sunt denumite în mod obișnuit zaharide. Cuvântul zaharide provine din cuvântul grecesc σάκχαρον (sákkharon), care înseamnă „zahăr". Deși nomenclatura zaharidelor este complexă, numele monozaharidelor și dizaharidelor se termină de cele mai multe ori cu sufixul -ză. De exemplu, zahărul din struguri este glucoza, zahărul este sucroza, iar glucida din lapte este lactoza. Carbohidrați îndeplinesc un rol important în organismele vii. Unele polizaharide sunt substanțe de rezervă sau depozit de energiei (cum sunt de exemplu, amidonul și glicogenul), iar altele sunt componente structurale (cum este celuloza la plante și chitina în artropode). Monozaharida riboză este o componentă importantă a coenzimelor (de exemplu ATP, FAD și NAD) dar și a unor compuși biochimici precum acidul ribonucleic (ARN). Dezoxiriboza este o componentă a acidului deoxiribonucleic (ADN). Zaharidele și derivații lor sunt biomolecule importante, care joacă un rol cheie in sistemul imunitar, fertilizare, coagularea sângelui sau în dezvoltare.

Digestia și absorbția glucidelor

Digestia glucidelor

Carbohidrații sunt sursa principală de hrană de pe planetă. Aproximativ 40% din necesarul zilnic de calorii este acoperit de carbohidrați. Dintre carbohidrați, amidonul reprezintă principala sursă de glucide alimentare (50%) pentru organismul uman, sucroza (zahărul comercial) reprezintă 25% iar lactoza 10% (Fig. 9.1).

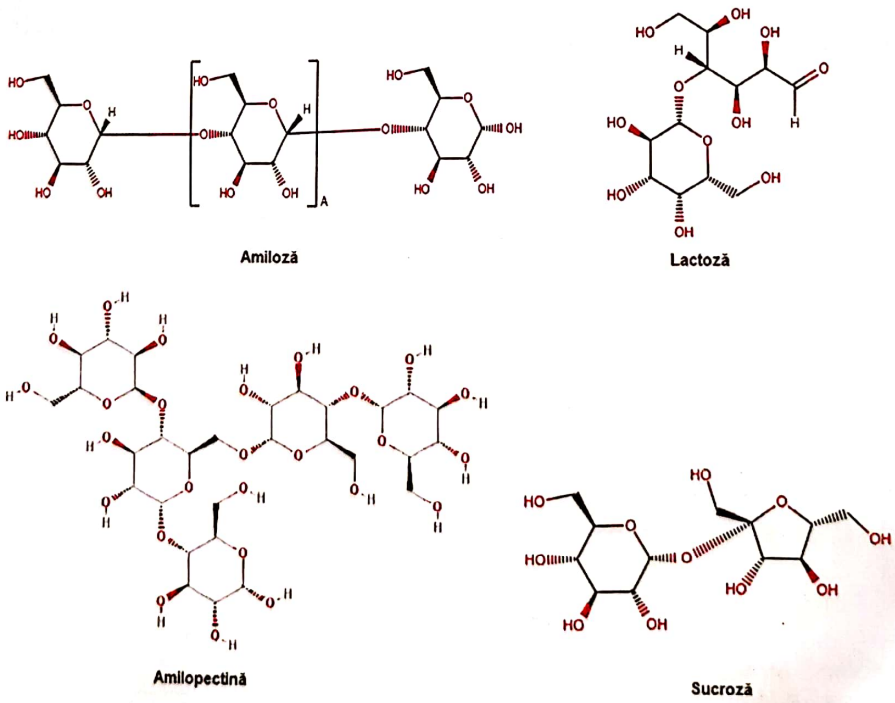


Fig. 9.1. Structura unor carbohidrati uzuali.

Scanned with OKEN Scanner

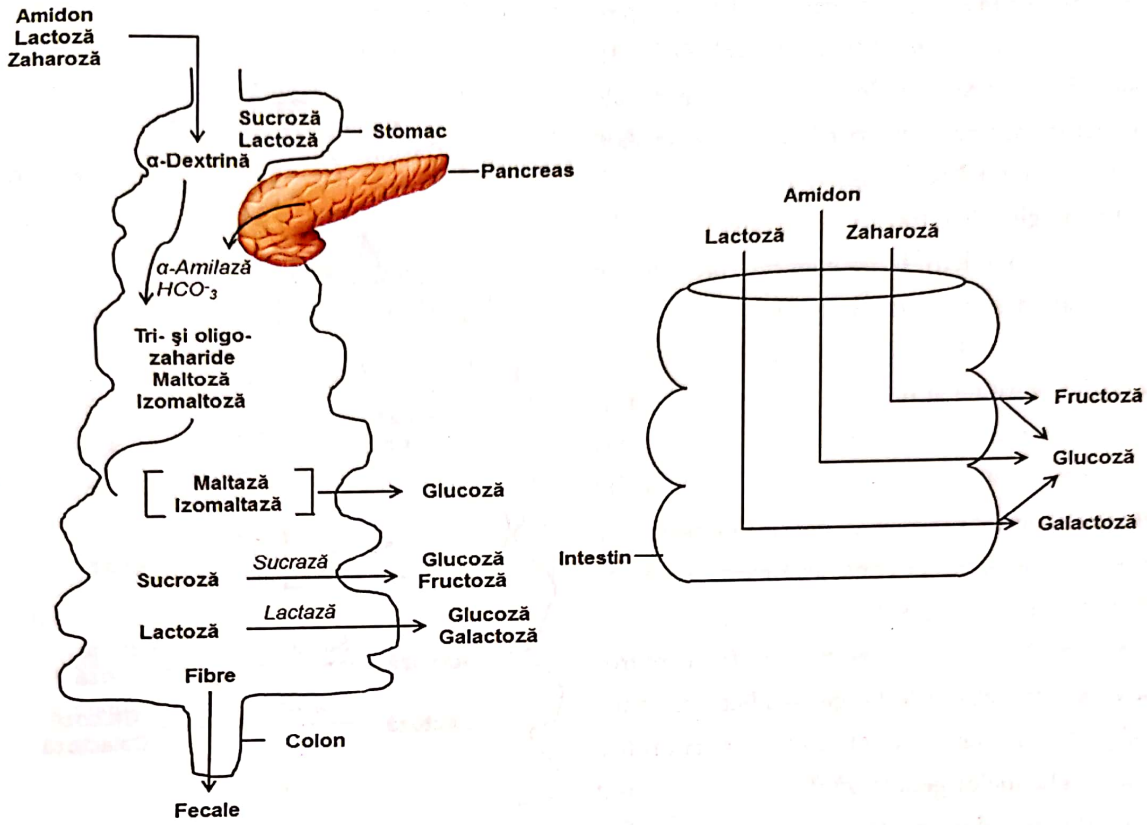


Fig. 9.2. Digestia şi absorbţia glucidelor. Privire generală (modificată dupa Marks' Basic Medical Biochemistry, 2014).

Digestia glucidelor începe în cavitatea bucală şi se continuă până la nivelul intestinului unde sunt absorbite sub formă de monozaharide (glucoză, fructoză, galactoză), monozaharidele reprezentând *singura formă absorbabilă* a glucidelor (Fig. 9.2).

La nivelul *cavităţii bucale*, sub acţiunea salivei alimentele suferă procese complexe de prelucrare mecanică (masticaţie, formarea bolului alimentar) şi de degradare enzimatică. Saliva este produsul de secreţie al glandelor parotide, submaxilare şi sublinguale. Saliva are un pH=7 (neutru) şi este alcătuită din: 99,5% apă, mucine-cu rol în lubrefierea bolului alimentar-, ptialina (α-amilaza salivară) care are rol în scindarea polizaharidelor si ioni (K^+; Ca^{2+}, HCO_3^-, iod, etc).

α-Amilaza salivară hidrolizează legăturile α-1,4 glucozidice din structura poliglucidelor (amidon, glicogen) cu formare de dizaharide (maltoză), trizaharide (maltotrioză) şi oligozaharide (dextrine) care ajung in stomac.

La nivelul *stomacului*, sub acţiunea sucului gastric,

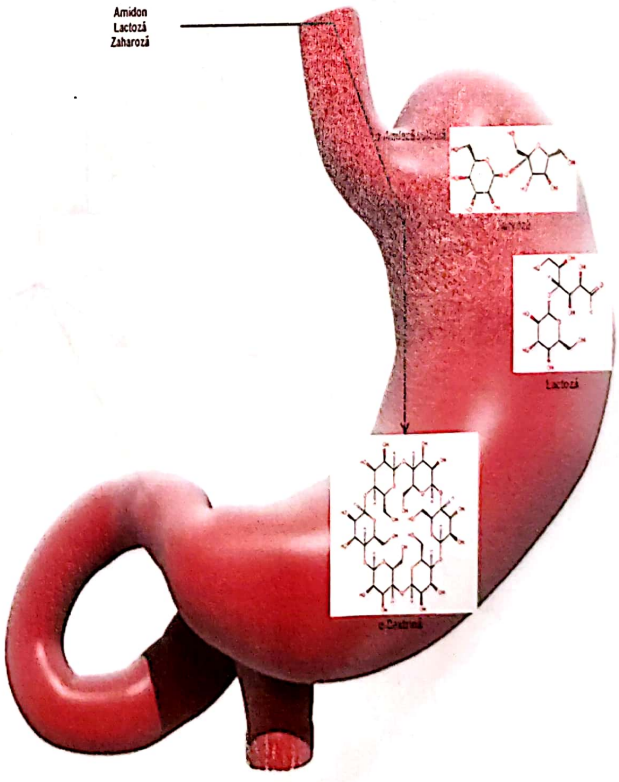


Fig. 1.3. Digestia glucidelor la nivelul stomacului

Scanned with OKEN Scanner

α-amilaza salivară este inactivată; *glucidele nu suferă nici-o transformare chimică la acest nivel* (Fig. 9.3). Sucul gastric este secretat de către celulele parietale din structura mucoasei gastrice în cantitate de 3000 ml/24h şi are un pH acid cuprins între 1,5-3.0.

Din stomac glucidele trec în *prima parte a intestinului subţire* (duoden), unde continuă procesul de digestie sub acţiunea dizaharidazelor in mediu creat de sucul pancreatic. Sucul pancreatic reprezintă produsul de secreţie al pancreasului exocrin, cantitatea zilnică produsă este cuprinsă între 1,5-3L/zi şi conţine: bicarbonat (HCO_3^-) ce neutralizează acidul clorhidric provenit din stomac, conţine de asemenea α-amilaza pancreatică ce continuă digestia începută în cavitatea bucală (Fig. 9.4).

Sub acţiunea α-amilazei pancreatice (care hidrolizează exclusiv legăturile 1,4 glucozidice), se continuă digestia începută în cavitatea bucală. Hidroliza partiala a glucidelor genereaza dextrinele care sunt hidrolizate mai departe la maltoză sub acţiunea

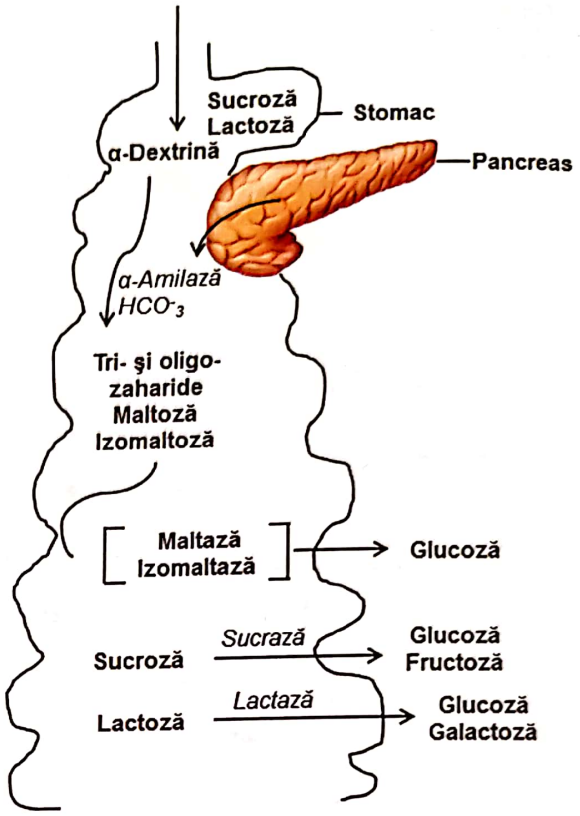


Fig. 9.4. . Digestia glucidelor la nivelul intestinului subtire (modificată dupa Marks' Basic Medical Biochemistry, 2014).

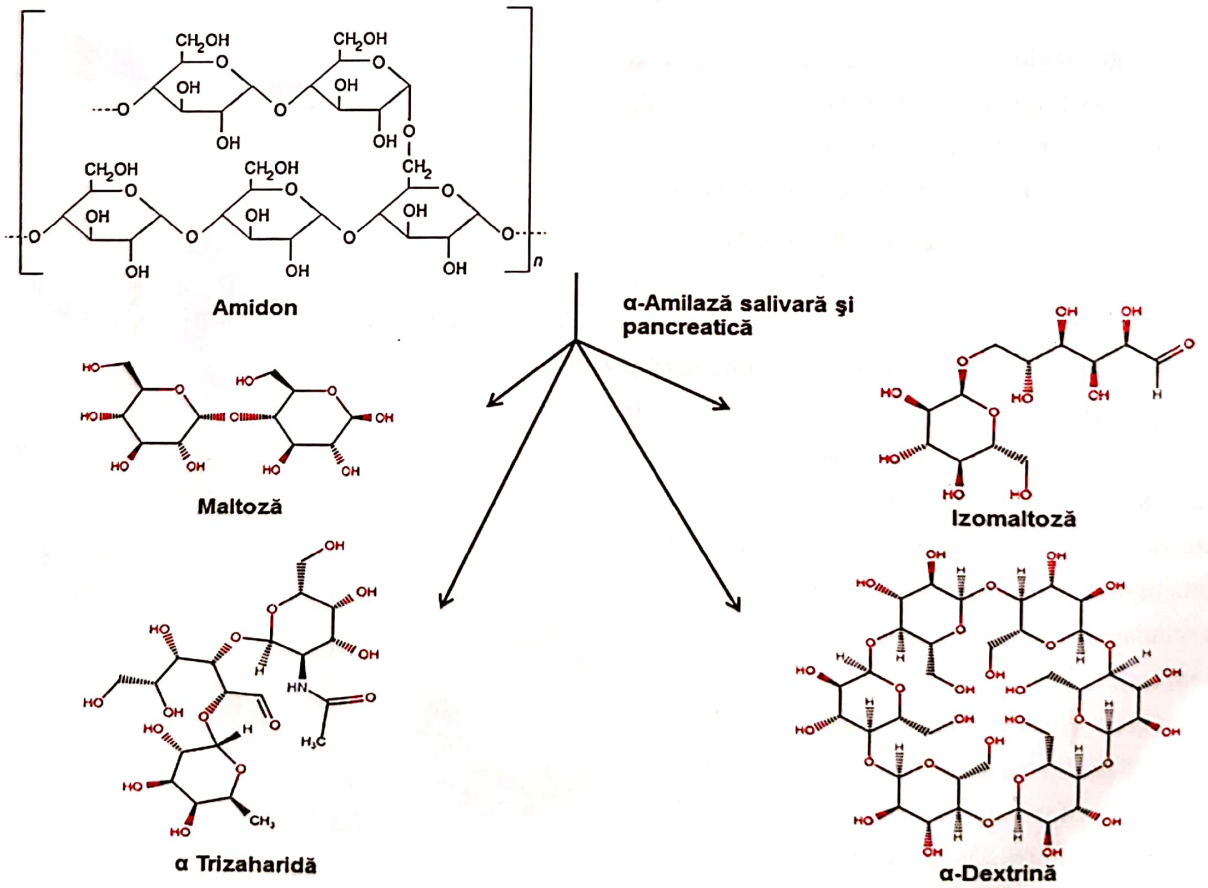


Fig. 9.5. Digestia amidonului sub acţiunea α-amilazei salivare şi pancreatice

Scanned with OKEN Scanner

amilo-1,6 glucozidazei, care desface legăturile α-1,6 glucozidice (Fig. 9.5).

Dizaharidele provenite direct din alimentație sau cele rezultate prin hidroliza enzimatică, nu pot străbate bariera intestinală și de aceea sunt hidrolizate la nivelul intestinului sub acțiunea dizaharidazelor (enzime ce prezintă specificitate de substrat) până la monozaharide (Fig. 9.6). Aceste enzime sunt sintetizate de către celulele epiteliului intestinal (enterocite) și acționează la nivelul marginii în perie a acestora, în imediata vecinătate a sistemului de transport prin peretele intestinal (Fig. 9.7).

Glucozidazele se găsesc sub forma a patru complexe glicoproteice ce predomină în lumenul intestinal (Fig. 9.6):

1. complexul sucrază-izomaltază – ce hidrolizează sucroza, maltoza, izomaltoza
2. complexul glucoamilază – scindează legăturile α 1,4 din structura dextrinelor
3. lactaza (β-glucozidaza) – scindează legătura β-glucozidică din lactoză
4. trehalaza – hidrolizează trehaloza.

Absorbția monozaharidelor

Monozaharidele sunt absorbite la nivelul mucoasei intestinale prin două mecanisme :

1. *transport activ – contra gradientului de concentrație*, ce necesită consum de energie. Transportul se realizează cu ajutorul unui carrier care este dependent de prezența sodiului (Na^+-glucoză cotransport), legarea acestuia la situsul specific determină creșterea afinității transportorului pentru monozaharid. Prin acest mecanism se realizează absorbția glucozei, fructozei, galactozei.

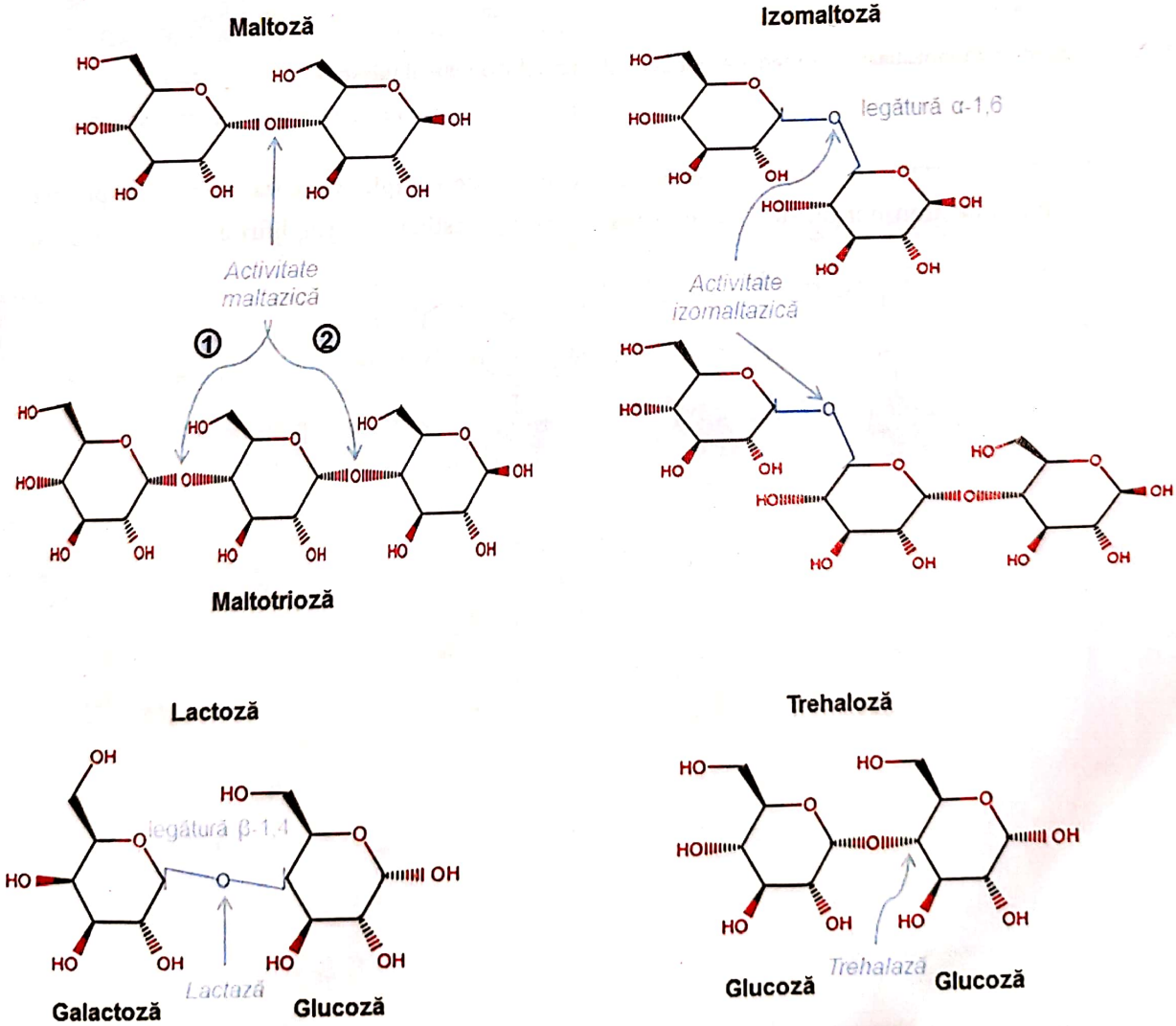


Fig. 9.6. Hidroliza dizaharidelor sub actiunea dizaharidazelor

Scanned with OKEN Scanner

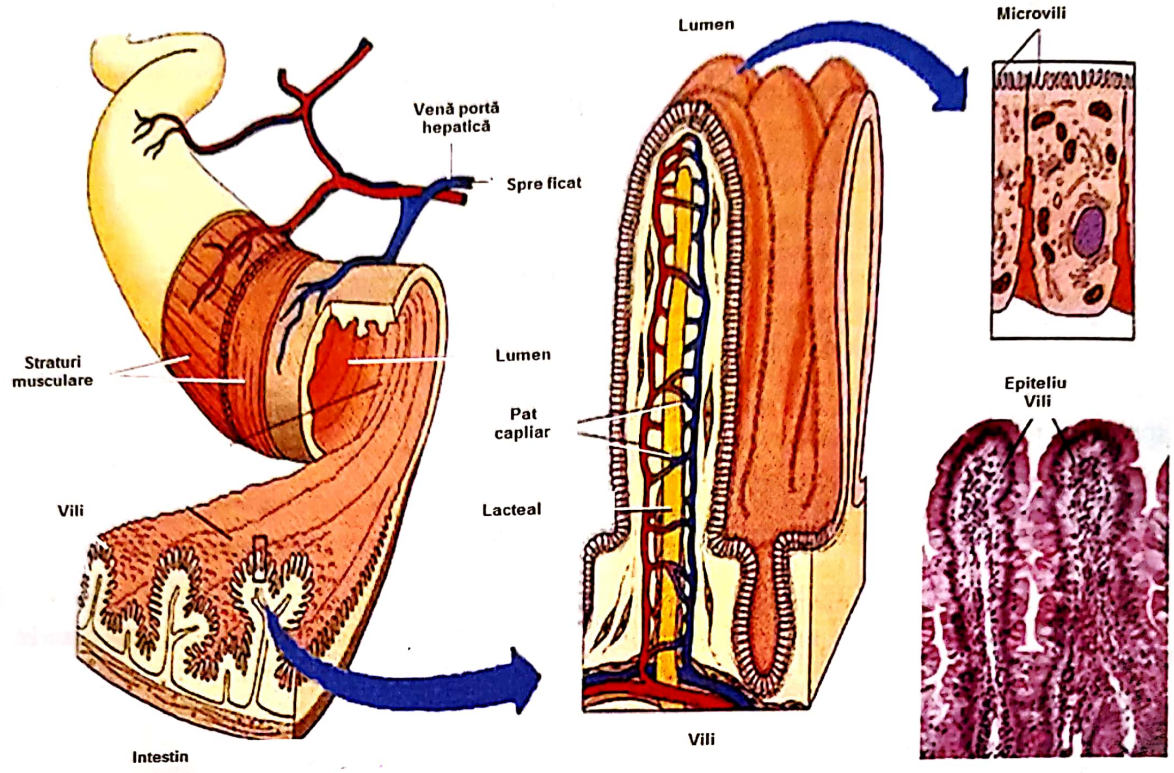


Fig. 9.7. Absorbția monozaharidelor mediată de microvili la nivelul peretelui intestinal

2. *transport pasiv - prin difuzie facilitată* ce nu necesită prezența unui transportor, deci nu necesită consum de energie. Glucoza şi fructoza pot trece bariera intestinală şi prin difuzie facilitată (Fig. 9.8).

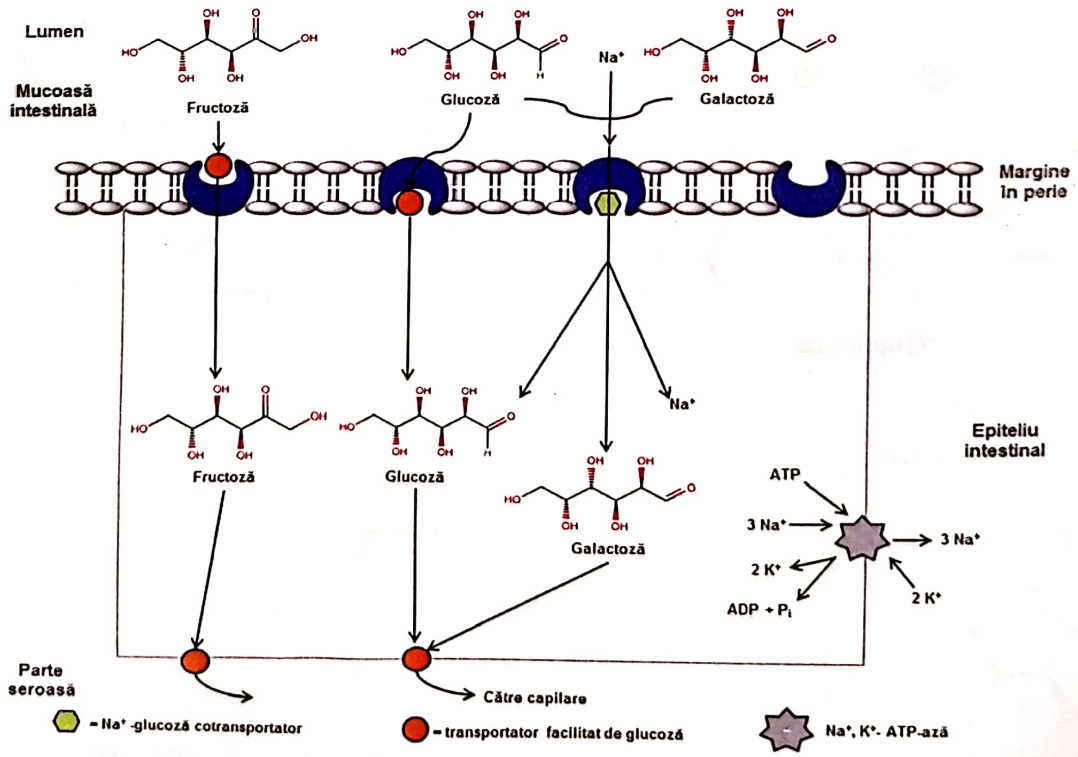


Fig. 9.8. Transport activ al glucozei, fructozei, galactozei la nivelul microvililor din peretele intestinal este dependent de prezența sodiului (Na+-glucoză cotransport).

Scanned with OKEN Scanner

Monozaharidele (glucoza, fructoza, galactoza) ies din celula intestinală prin difuzie facilitată și ajung în circulația sanguină de sunt preluate de organe și țesuturi.

Observatie: *Sodiul este expulzat din celulă cu ajutorul ATP-azei Na^+, K^+ dependente asigurându-se astfel reâncărcarea transportorului.*

Transportul glucozei în țesuturi este realizat cu ajutorul transportorilor denumiti generic GLUT care prezintă 5 izoforme (I-V), fiind diferiti de la un țesut la altul. De remarcat ca fructoza folosește un carrier diferit de cel al glucozei.

Viteza de absorbție a monozaharidelor este și ea diferită de la un țesut la altul în funcție de particularitățile acestuia. *Creierul este un organ glucodependent* (utilizează exclusiv glucoza pentru a obține energia necesară) si de aceea absorbția glucozei la acest nivel este diferită de a celorlalte țesuturi (Fig. 9.9). La nivelul creierului celulele endoteliale prezintă joncțiuni foarte strânse care formeaza o membrană bazală continuă si de aceea glucoza poate trece din sânge în lichidul cefalorahidian și apoi prin membrana bazală doar cu ajutorul unor transportori specifici.

Creierul fiind astfel un organ extrem de sensibil la scăderi ale nivelului glucozei sanguine sub limitele normale. Principalele semne ale hipoglicemiei sunt reprezentate de cefalee, ameteli, mergând în cazuri severe până la comă.

Fibrele alimentare prezente în dietă (celuloza, pectinele) nu pot fi digerate la nivelul tractului digestiv al omului, deoarece acesta nu posedă echipamentul enzimatic necesar.

Totuși, flora bacteriană prezentă în mod normal în intestinul uman poate degrada fibrele solubile până la gaze (hidrogen, metan, CO_2), și acizii propionic, acetic sau butiric.

Deși lipsite de valoare nutritivă, fibrele alimentare sunt importante pentru organism deoarece participă la reglarea tranzitului intestinal și la formarea bolului fecal, fiind astfel eliminate odată cu materiile fecale.

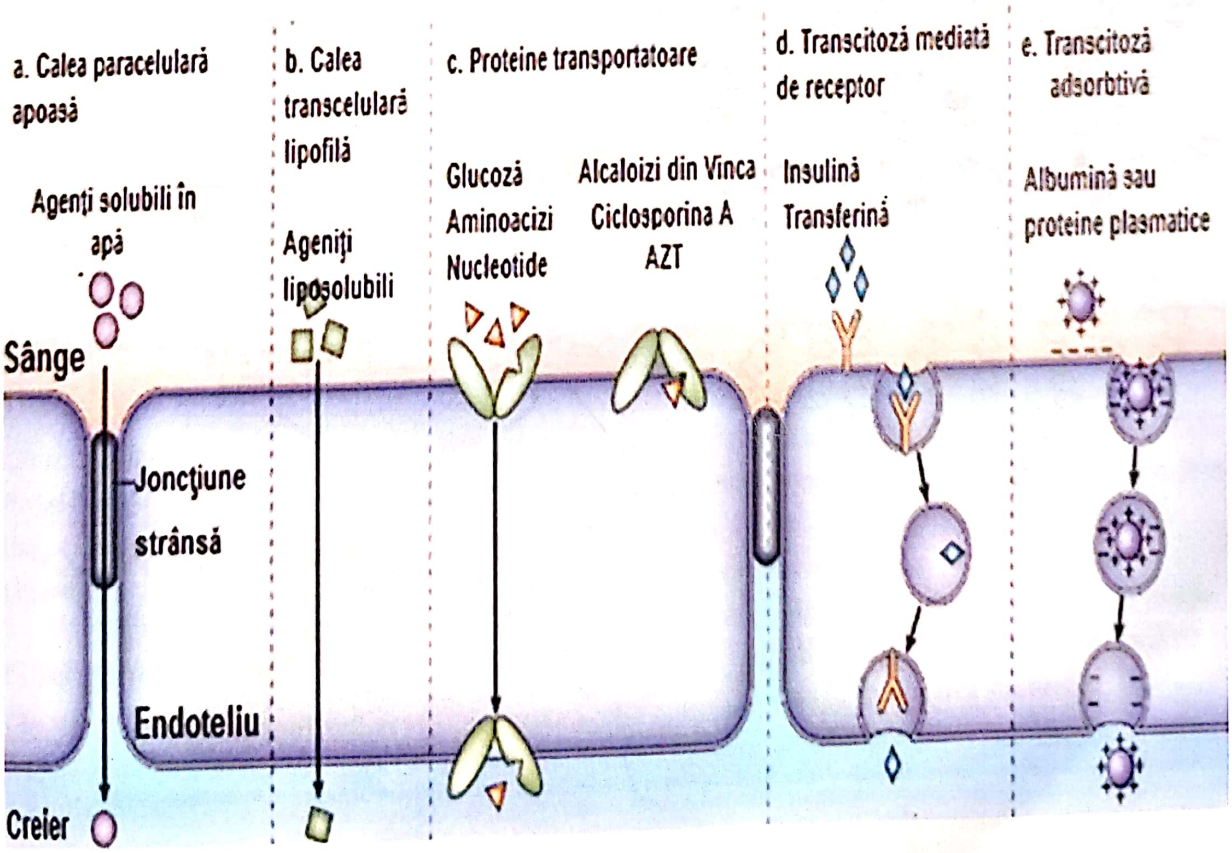


Fig. 9.9. Transportul glucozei la nivelul barierei hemato-encefalice

Scanned with OKEN Scanner

Patobiochimia digestiei și absorbției glucidelor

Anomaliile în digestia și absorbția dizaharidelor sunt datorate deficitelor enzimatice ale dizaharidazelor, manifestate de regula prin intoleranță la ingestia dizaharidului corespunzător. Acest deficit are drept consecință *acumularea în intestin a dizaharidelor ce determină creșterea presiunii osmotice și pierderi digestive de apă prin trecerea acesteia din spațiile interstițiale în intestin*. Un exemplu îl constituie *intoleranța la lactoză* care poate fi congenitală (deficiență în producerea de lactază) sau dobândită (leziunea unei porțiuni din intestin care produce în mod normal lactaza) si se manifestată prin: dureri abdominale, diaree, flatulență, senzație de vomă ce urmează ingestiei de lactoză.

Metabolismul glicogenului

Glicogenul reprezintă forma de stocare a excesului de glucoză în majoritatea țesuturilor și este alcătuit din unități de glucoză legate între ele prin legături α-1,4 și α-1,6 glucozidice (Fig. 9.10).

Ficatul și mușchii sunt organe ce dețin importante depozite de glicogen, dar pe care îl utilizează în scopuri diferite. Ficatul utilizează glicogenul în scopul restabilirii glicemiei pe când mușchiul utilizează glicogenul ează exclusiv pentru a asigura necesarul propriu de energie.

Glicogenoliza (degradarea glicogenului) și glicogenogeneza (sinteza glicogenului) sunt două procese ce decurg paralel. Aceste căi funcționează asincron sub acțiunea unor factori de reglare și sunt dictate de necesitățile organismului (Fig. 9.11).

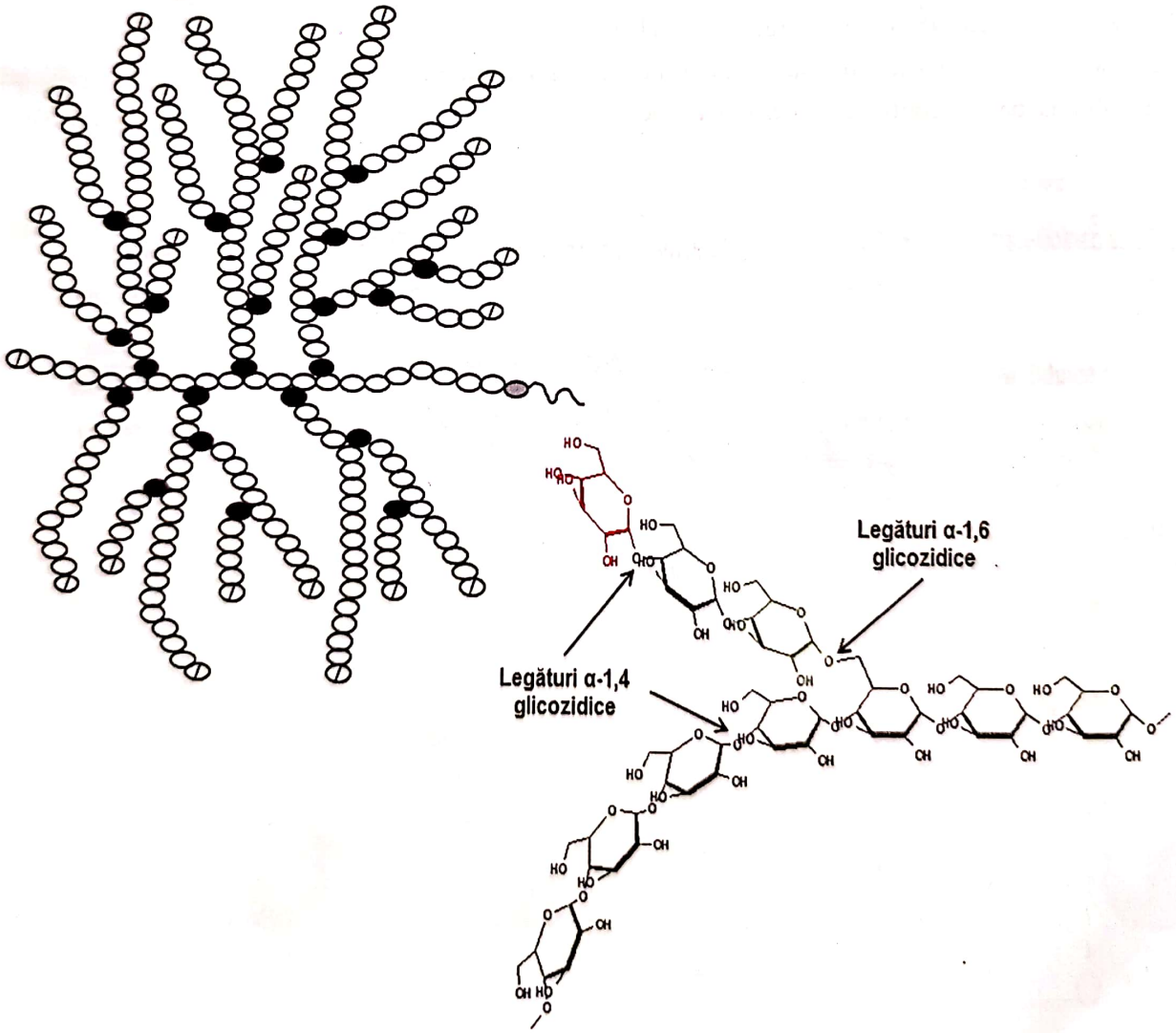


Fig. 9.10. Structura glicogenului (modificată după Marks' Basic Medical Biochemistry, 2014).

Scanned with OKEN Scanner

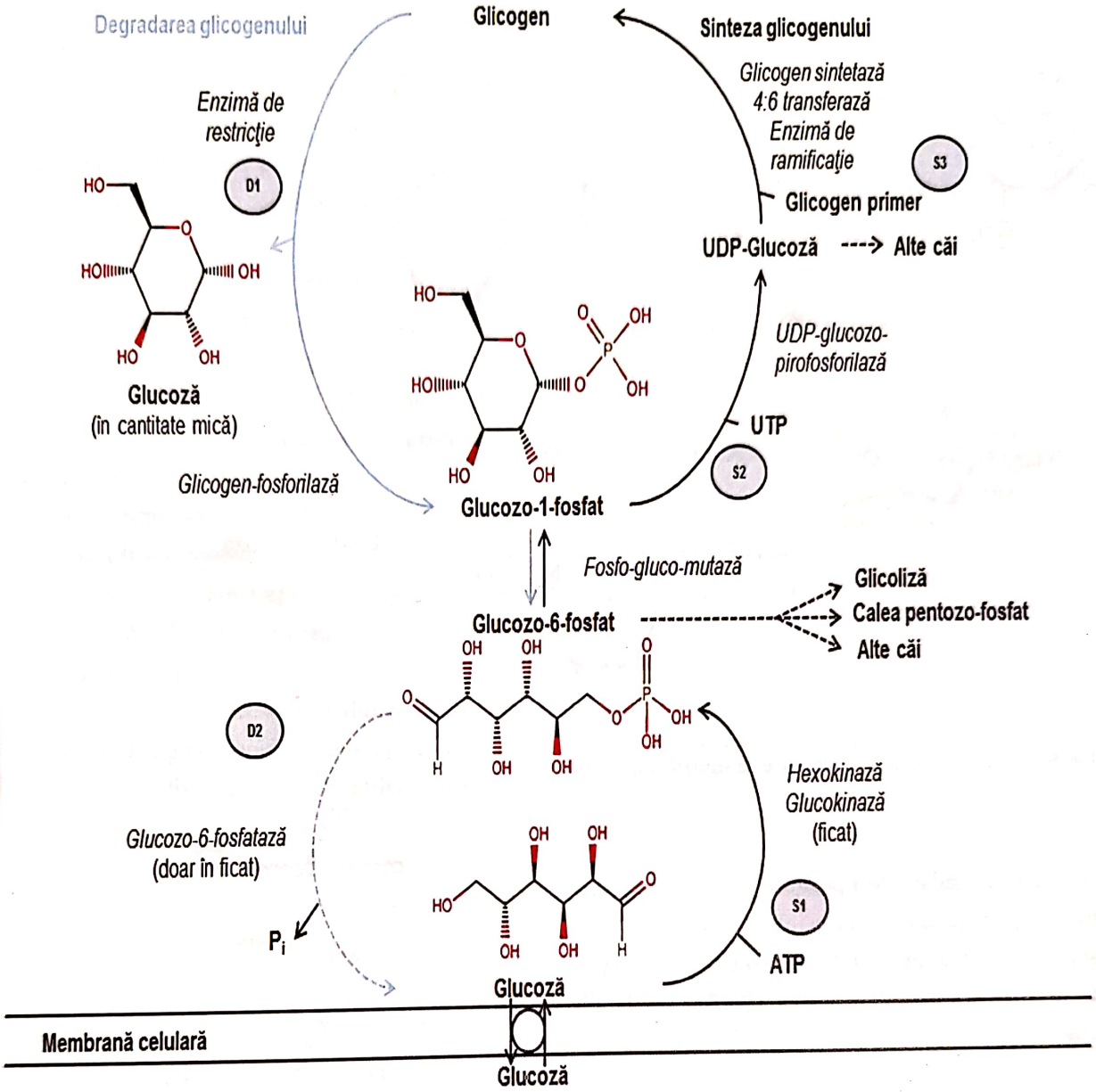


Fig. 9.11. Degradarea glicogenului şi sinteza glicogenului sunt două procese ce decurg paralel. Aceste căi funcţionează asincron sub acţiunea unor factori de reglare şi sunt dictate de necesităţile organismului

Glucozo-6-fosfatul este punctul de răscruce metabolică şi la acest nivel se decide calea metabolică (glicoliză, calea pentozo-fosfaţilor sau glicogenogeneză) (Fig. 9.11).

Glicogenogeneza

Glucozo-1-fosfatul reprezintă punctul de start în sinteza glicogenului dar şi produsul de degradare al acestuia. Biosinteza glicogenului pornind de la glucozo-1-fosfat implică realizarea legăturilor α-1,4 şi α-1,6 glicozidice sub acţiunea unor enzime specifice şi necesită aport energetic sub forma UTP (Fig. 1.12). Biosinteza glicogenului este finalizata prin procese de ramificare si compactare (Fig. 9.13).

Sinteza glicogenului necesită două enzime:

- glicogen sintaza (enzima de ramificare) realizează legăturile α 1,4 glicozidice, fiind totodată şi o enzimă cheie în reglarea sintezei;
- enzima de ramificare care închide sinteza glicogenului.

Structura ramificată a glicogenului are două avantaje majore: (i) oferă un număr mare de situsuri de

Scanned with OKEN Scanner

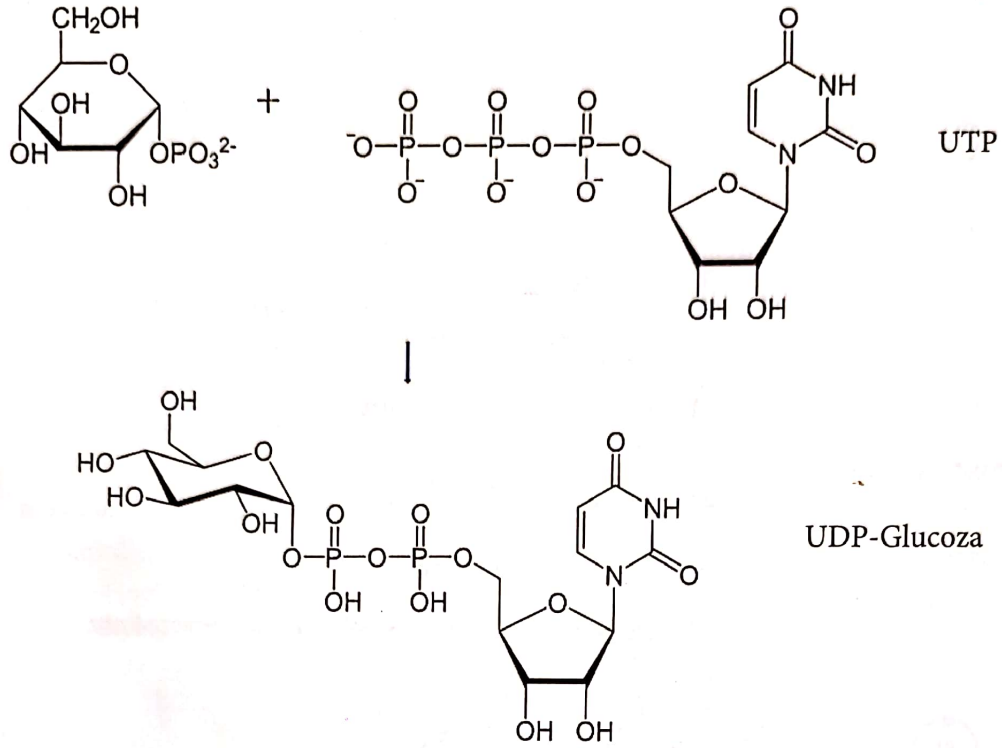


Fig. 9.12. Activarea glucozei de catre uridintrifosfat (UTP).

sinteză şi degradare deci permite o compactare mai mare a glicogenului. Consecința este crestere densitătii energetice pe unitatea de volum de glicogen. In plus, creste solubilitatea macromoleculei de glicogen.

Glicogenoliza

Atunci când nivelul glucozei sanguine scade, glicogenul este degradat cu formarea produsului final, glucozo-1-fosfatul. Acest proces presupune desfacerea legăturilor α-1,4 şi α-1,6 glicozidice sub acțiunea a două enzime:

- glicogenfosforilaza – desface legăturile α 1,4 glicozidice, formând glucozo-1- fosfatul
- pentru a desface legăturile α 1,6 este nevoie de intervenția unei alte enzime, numită enzimă de deramifiere (Fig. 9.13, 9.14.).

Ca urmare a *glicogenolizei se formează glucozo-1-fosfat şi mici cantități de glucoză.*

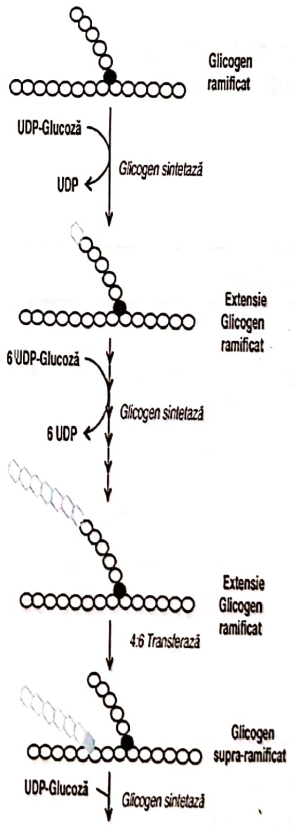


Fig. 9.13. Biosinteza glicogenului implica procese de ramificare (compactare) si necesită două enzime: glicogen sintaza si o enzima de ramificare (modificata dupa Marks' Basic Medical Biochemistry, 2014).

Scanned with OKEN Scanner

Reglarea metabolismului glicogenului

În glicogenoliză enzima cheie de reglare este *glicogenfosforilaza* ce se găsește în țesuturi sub două forme interconvertibile prin fosforilare – defosforilare, notate cu "a" (forma fosforilată, activă) și "b" (forma defosfo, inactivă).

În glicogenogeneză enzima cheie de reglare este *glicogensintaza* ce se găsește în țesuturi sub două forme interconvertibile prin fosforilare – defosforilare, notate cu "a" (forma defosfo, activă) și "b" (forma fosforilată, inactivă). Acestea pot fi reprezentate in figura 9.15.

Ambele enzime pot fi controlate atât prin mecanism alosteric, cât și covalent.

Glicogenfosforilaza are drept efector alosteric pozitiv (activator) AMP-ul, iar glucozo-6-fosfatul și ATP-ul sunt inhibitori (Fig. 9.16).

Astfel AMPc format sub acțiunea adrenalinei (epinefrina) și glucagonului, secretați ca raspuns la stres ("fight or fly") sau hipoglicemie, activează *gli-*

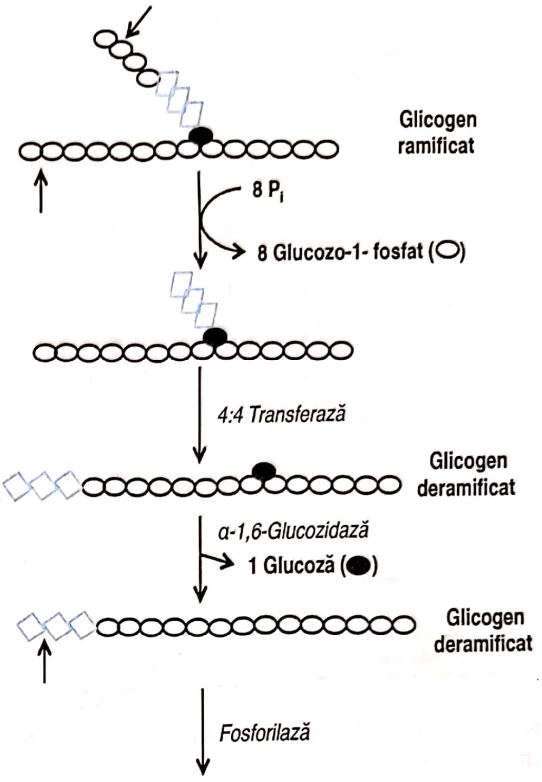


Fig. 9.14. Degradarea glicogenului implica procese de de-compactare si hidroliza sub actiunea unei glicogen-fosforilaze.

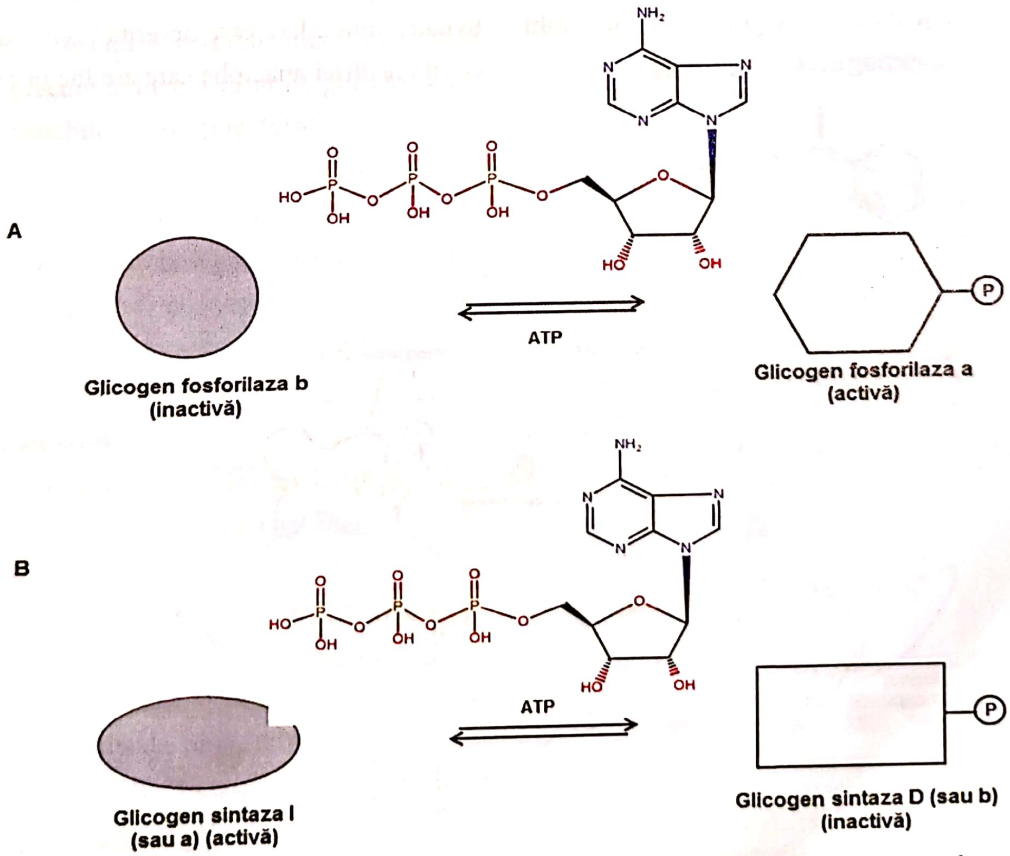


Fig. 9.15. În glicogenoliză enzima cheie de reglare este glicogenfosforilaza. În glicogenogeneză enzima cheie de reglare este glicogensintaza.

Scanned with OKEN Scanner

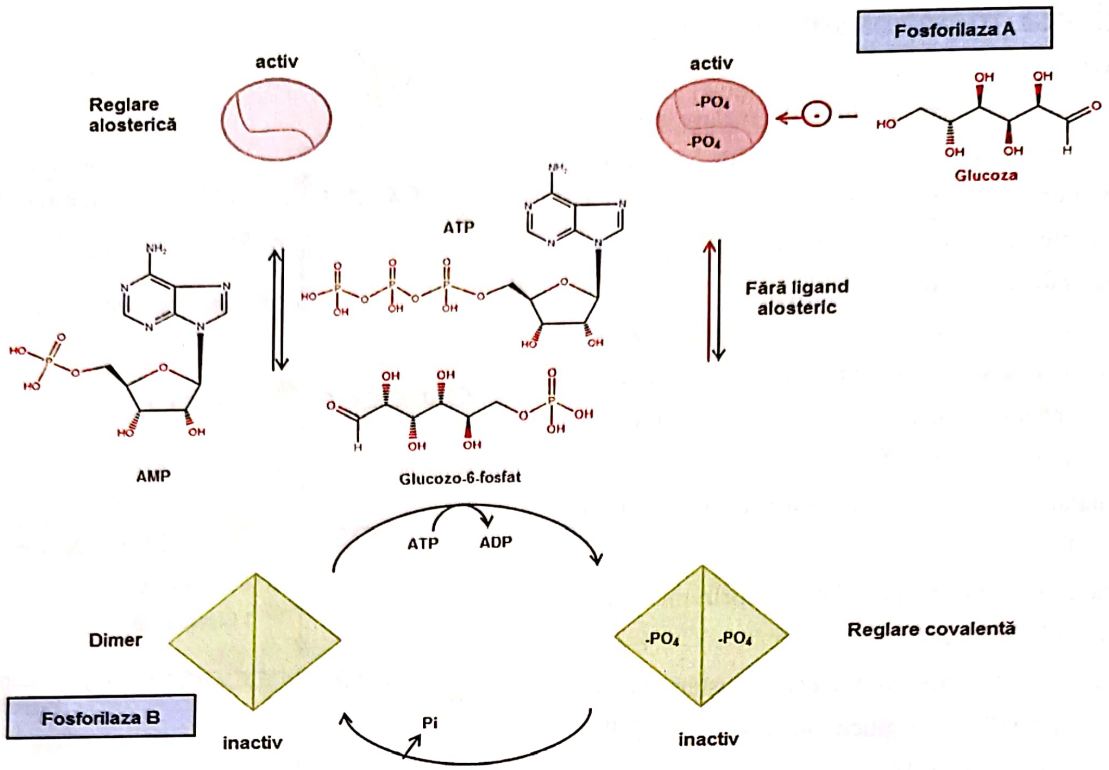


Fig. 9.16. Glicogenfosforilaza are drept efector alosteric pozitiv (activator) AMP-ul, iar glucozo-6-fosfatul şi ATP-ul sunt inhibitori

cogenfosforilaza, având drept consecinţă stimularea glicogenolizei şi inactivează glicogensintaza, inhibând astfel glicogenogeneza (Fig. 9.17).

Reglarea glicogenolizei în muschi este legată de activitatea musculară care necesita ATP îndeosebi în cazul glicolizei anaerobe care are loc în ţesuturi cu

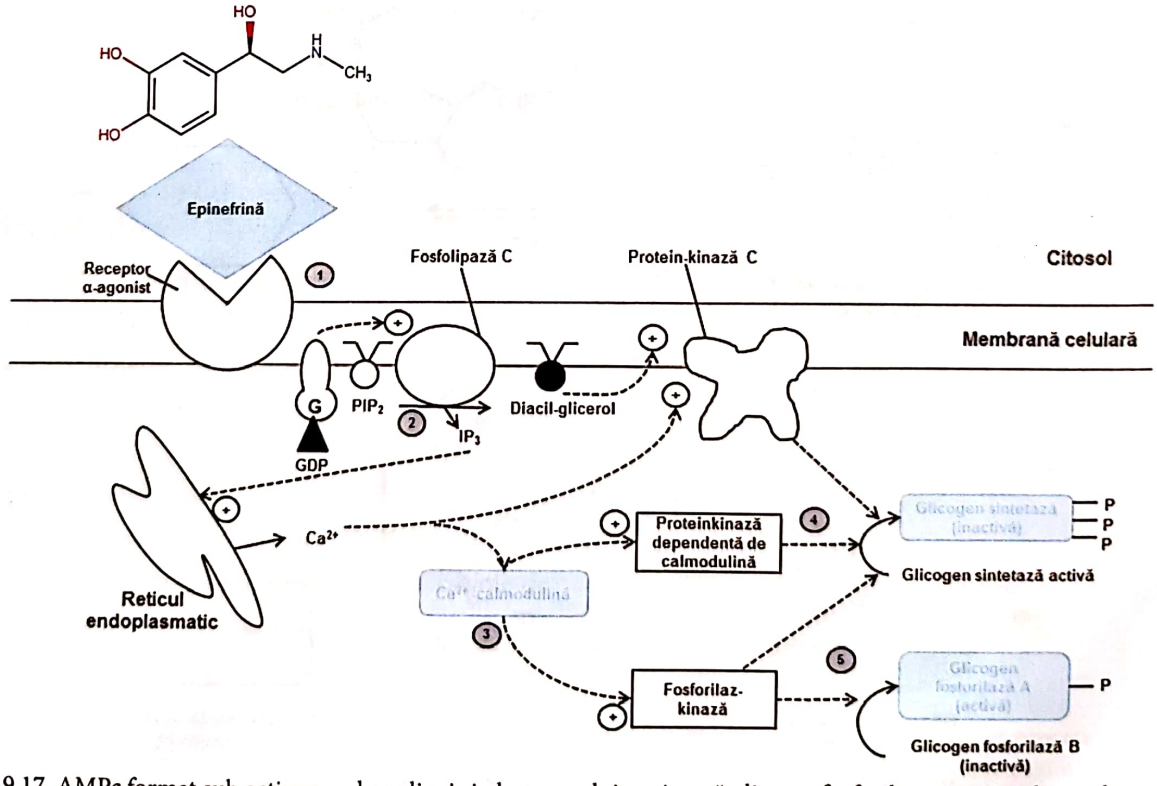


Fig. 9.17. AMPc format sub acţiunea adrenalinei şi glucagonului activează glicogenfosforilaza, cu stimularea glicogenolizei şi inhibarea glicogenogenezei.

Scanned with OKEN Scanner

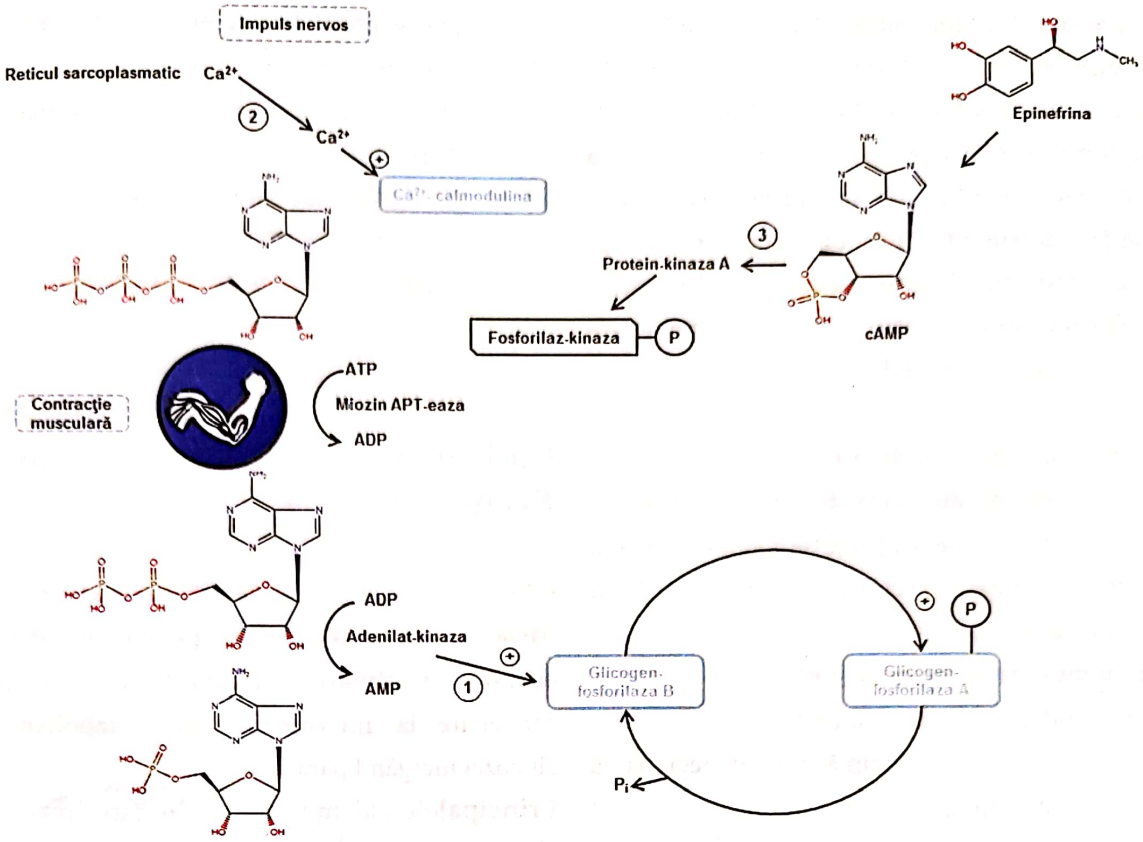


Fig. 9.18. Reglarea glicogenolizei în muschi este legată de activitatea musculară care necesită ATP.

mai puține mitocondrii, conținut ridicat în enzime glicolitice precum si nivel ridicat de glicogen cum este cazul mușchilor striați (Fig. 9.18).

Insulina are efecte antagoniste glucagonului, astfel scăderea concentrației AMPc prin creșterea concentrației de insulină, activează glicogensintaza (stimulează glicogenogeneza) și inactivează glicogenfosforilaza (inhibă glicogenogeneza) (Fig. 9.19).

Patobiochimie

Deficiența ereditară a enzimelor implicate în metabolismul glicogenului determină apariția unor boli caracterizate prin depunerea în cantitate mare a glicogenului (glicogenoze) in ficat si muschi.

Sindromul Mc Ardle- se datorează *deficienței fosforilazei musculare*, caracterizat prin depuneri masive de glicogen si însoțite de: oboseală musculară prematură, crampe, durere musculară care apar in cursul efortului muscular. Acest sindrom se caracterizează prin mioglobinurie datorata degradarii muschilor prin rhabdomioloză și creșterea nivelului seric al creatinkinazei tip M.

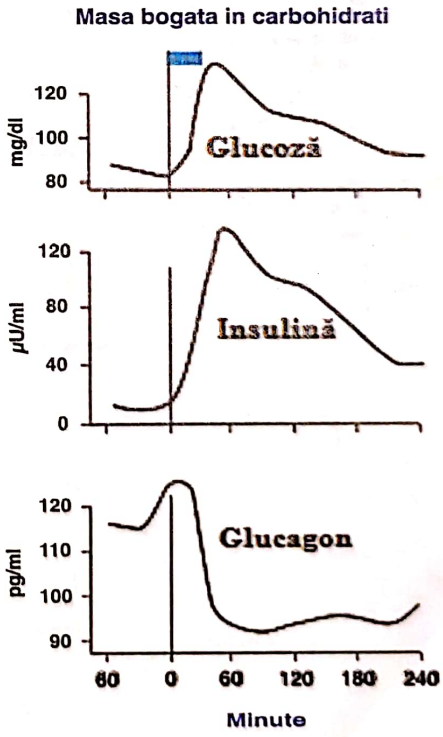


Fig. 9. 19. Insulina are efecte antagoniste glucagonului, astfel scăderea concentrației AMPc prin creșterea concentrației de insulină stimulează glicogenogeneza și inhibă glicogenogeneza.

Scanned with OKEN Scanner

Boala von Gierke (glicogenoza hepato-renală) se datorează deficitului sau absenței glucozo-6-fosfatazei în ficat, rinichi și intestin. Manifestările clinice ale bolii sunt: hipoglicemie ce nu poate fi corectată prin administrare de glucagon sau adrenalină, cetogeneză, lactacidemie (prin mobilizarea rezervelor de lipide și proteine), hepatomegalie, convulsii, manifestări neurologice. Boala apare în primele luni de viață și are o evoluție fatală.

Glicogenoza Anderson determinată de deficiența enzimei de ramificare a glicogenului (amilo 1,4-1,6 transferaza) care se manifestă prin hepatosplenomegalie si ciroză cu evoluție fatală în jurul vârstei de 10 ani.

Alte exemple de glicogenoze sunt:

- sindromul Pompe datorat deficitului de 1,4-1,6 glucozidază enzimă cu rol în degradarea glicogenului;
- glicogenoza Forbes datorată lipsei enzimei de deramifiere a glicogenului;
- glicogenoza Hers caracterizată prin scăderea activității fosforilazei hepatice;
- glicogenoze de tip 7 (formă a maladiei Hers);
- glicogenoze de tip 8 (caracterizată prin absența glucagonului)
- glicogenoze de tip 9 (deficit în activarea fosforilazei).

Căile de metabolizare ale glucozei. Privire generală.

Glucoza ocupă un loc central în metabolismul celulei. **Este o sursă universală de energie dar și sursă de atomi de carbon pentru majoritatea compușilor celulari. Fructoza și galactoza sunt convertite la intermediari ai metabolismului** glucozei mergând paralel cu aceasta.

Principalele căi metabolice în care implicată glucoza sunt schematizate în figura 9.20:

Glucoza prin intermediul UDP-glucozei înde-

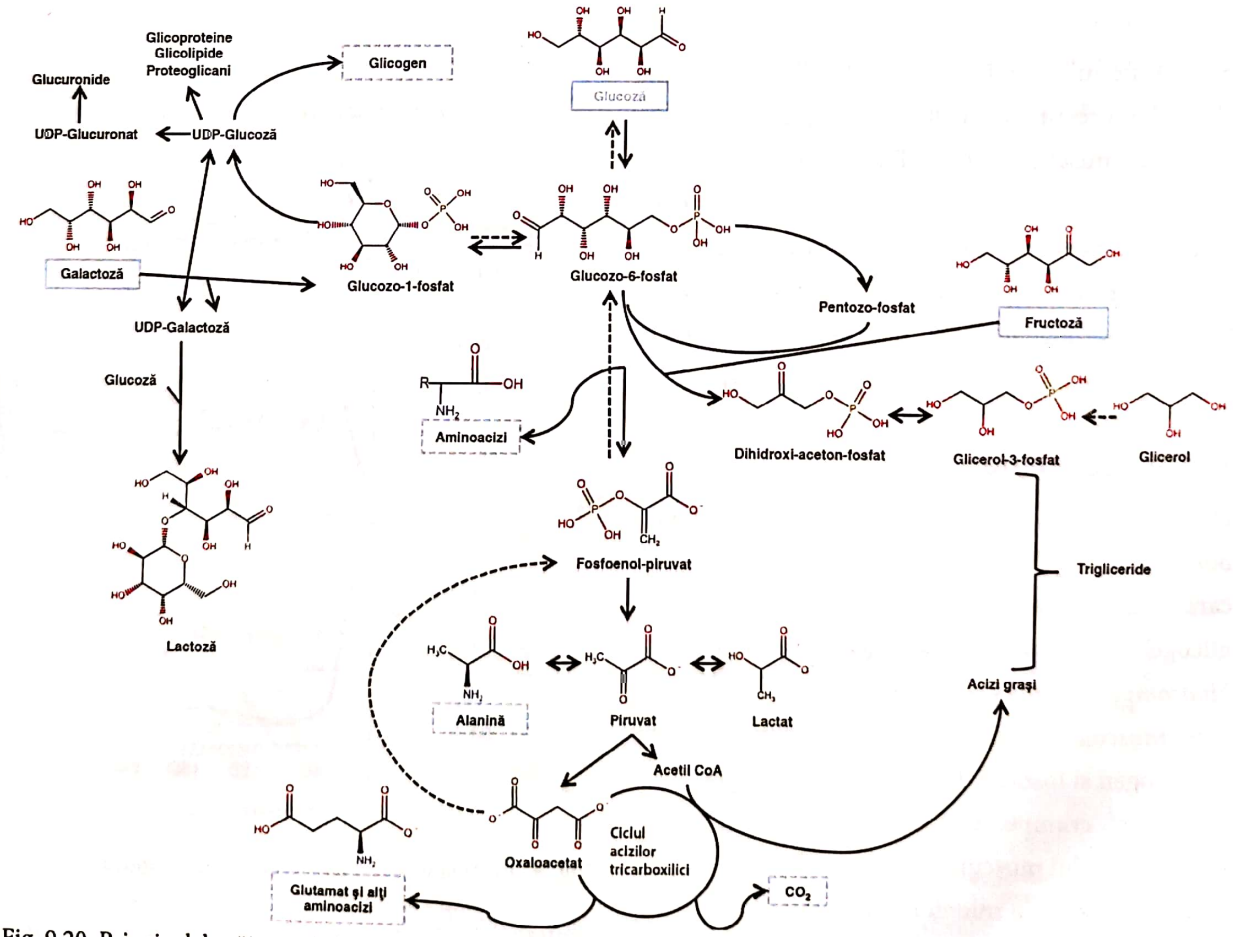


Fig. 9.20. Principalele căi metabolice în care este implicată glucoza sunt schematizate

Scanned with OKEN Scanner

plineşte numeroase funcţii în organism:

- sinteza glicogenului (forma de stocare a glucozei)
- sinteza acizilor uronici (acid glucuronic) necesari sintezei de proteoglicani şi eliminării din organism a xenobioticelor;
- sinteza pentozelor necesare obţinerii acizilor nucleici;
- sinteza de glicoproteine, glicolipide, proteoglicani.

Angajarea glucozei într-o cale sau alta este determinată de starea metabolică a ţesutului la momentul respectiv. La animale, in conditii normale, glucoza este oxidată in vederea obtinerii de energie, un proces invers avand loc in cazul plantelor care sunt principalul producator de polizaharide (Fig. 9.21A). In conditii de abundenta calorica glucoza este convertita la aminoacizi, lipide sau stocata sub forma de glicogen in ficat (Fig. 21B, C). In conditii de hipoxie (carenta de oxigen), glucoza este folosita pentru obtinere de energie prin conversie in lactat, un proces care are o eficienta scazuta in comparatie cu oxidarea glucozei in conditii aerobiotice (Fig. 9.21D). In conditii de carentă proteica, glucoza poate fi folosita pentru mentinerea unui pool de aminacizi in plasma (Fig. 9.21E), in timp ce in urma unui post prelungit, glicemia este mentinuta prin hidroliza grasimilor (Fig. 9.21F).

După captarea glucozei de către celule, aceasta este fosforilată la glucozo-6-fosfat de către o hexokinază,

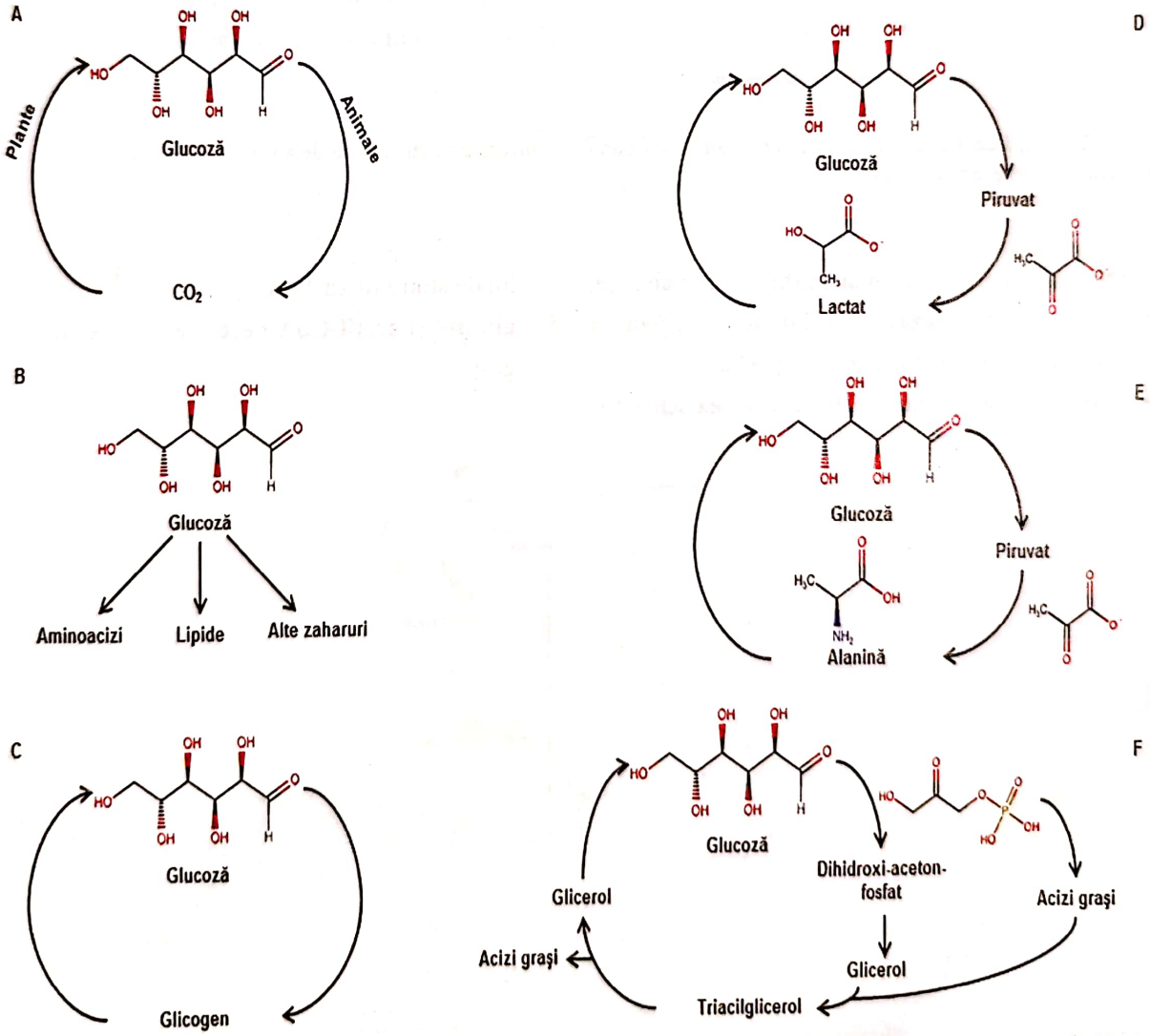


Fig. 9.21. Angajarea glucozei într-o cale sau alta este determinată de starea metabolică a ţesutului la momentul respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

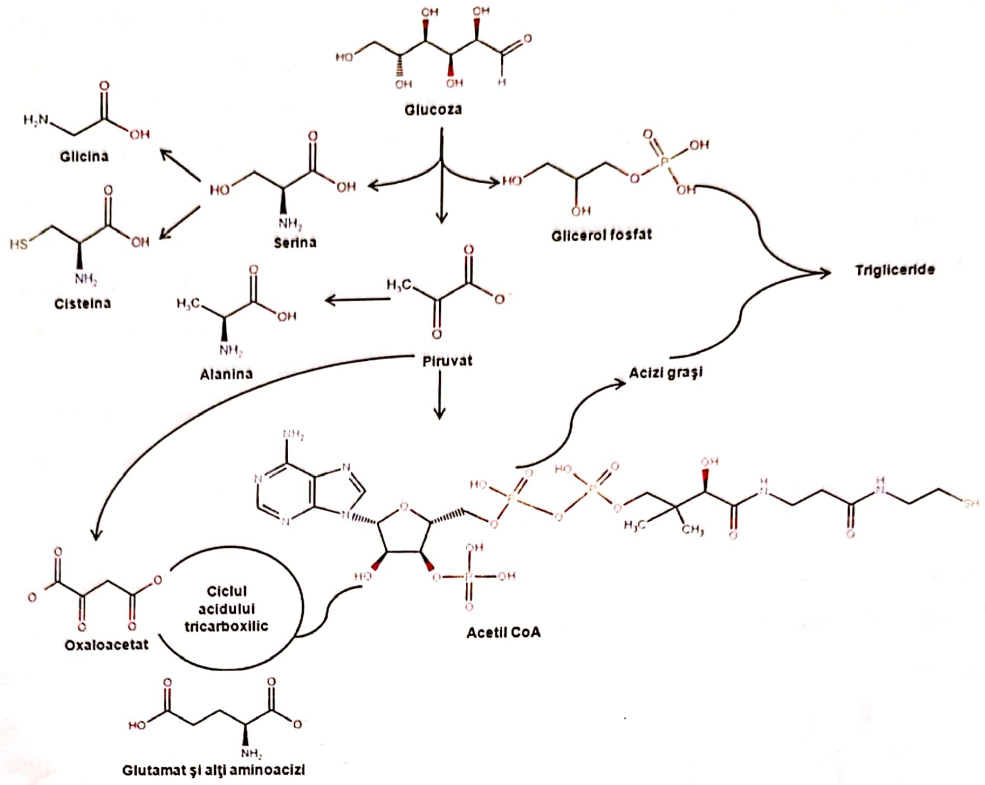


Fig. 9.22. După captarea glucozei de către celule, aceasta este folosită pentru sinteza de aminoacizi şi acetil-CoA necesara sintezei acizilor graşi

compus ce poate urma mai multe căi metabolice, prin care se sintetizează compuşi importanţi pentru organism dintre care fac parte (Fig. 9.22):

- sinteza de aminoacizi prin furnizarea scheletului de atomi de carbon
- glicerol şi acetil-CoA necesare sintezei acizilor graşi.

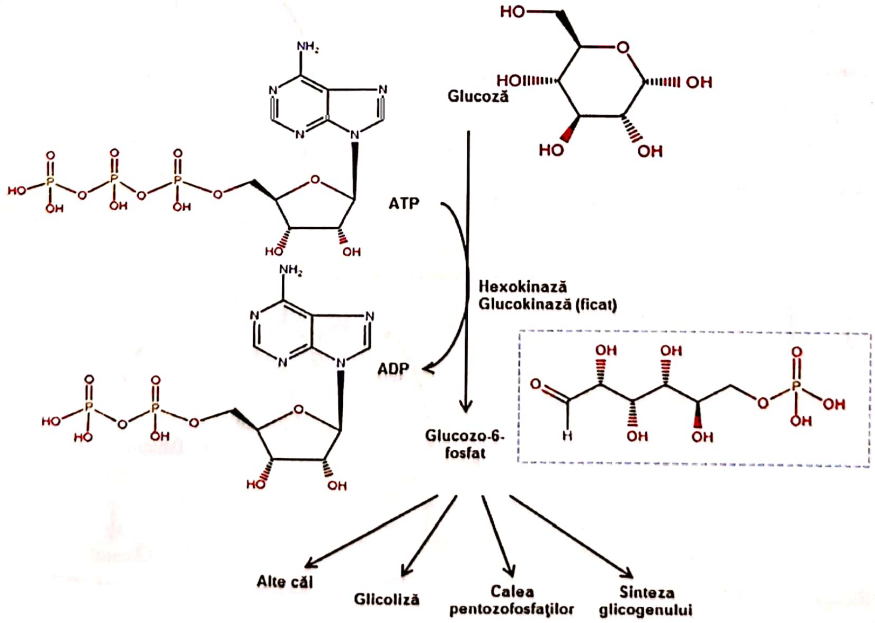


Fig. 9.23. Căile majore ale metabolismului glucozei sunt reprezentate de: glicoliza, calea pentozofosfaţilor, glicogeneză.

Scanned with OKEN Scanner

Degradarea parțială a glucozei. Glicoliza.

Căile majore ale metabolismului glucozei sunt reprezentate de: glicoliza, calea pentozofosfaților, glicogenogeneză. Destinatia primară a glucozo-6-fosfatului este re- prezentată de oxidarea acestuia pe calea glicolizei cu formarea de ATP pentru toate celulele,cu excepția celor care nu posedă mitocondrii (Fig. 9.23). Celulele oxidează complet glucoza (la CO_2, apă și ATP) pe calea glicolizei aerobe cuplata cu ciclul Krebs, lanțul transportorilor de hidrogen și electroni cuplat cu fosforilarea oxidativă. Din glucoză se generează intermediari ai glicolizei și ciclului Krebs (ciclul acizilor tricarboxilici) ce sunt utilizați pentru sinteza aminoacizilor, glicerolului și acizilor grași (Fig. 9.22). Pentru a obține energia necesară din glucoză, aceasta trebuie sa parcurgă procesul de glicoliză fie aeroba, fie ca degradarea incompletă până la piruvat sau la lactat în conditii de anaerobioză (Fig. 1.24). Piruvatul patrunde in mitocondrii și genereaza acetil-CoA care urmeaza calea ciclului Krebs cuplat cu lanțul respirator și fosforilarea oxidativă. Astfel are loc degradarea completă a glucozei până la CO_2, apă și energie (Fig. 9.25).

Glicoliza are drept scop obținerea de energie (ATP) atunci când există o disponibilitate crescută de glucoză (postprandial). În ficat și alte țesuturi, glicoliza reprezintă și o cale de transformare a glucozei în lipide de rezervă la care se va apela atunci când nivelul glucozei serice scade. Procesul prezintă câteva particularități:

- reacțiile au loc în citosol
- în glicoliză se consumă 2 moli de ATP și se formează 4 moli. Astfel bilanțul net este de 2 moli ATP care pot fi utilizați direct

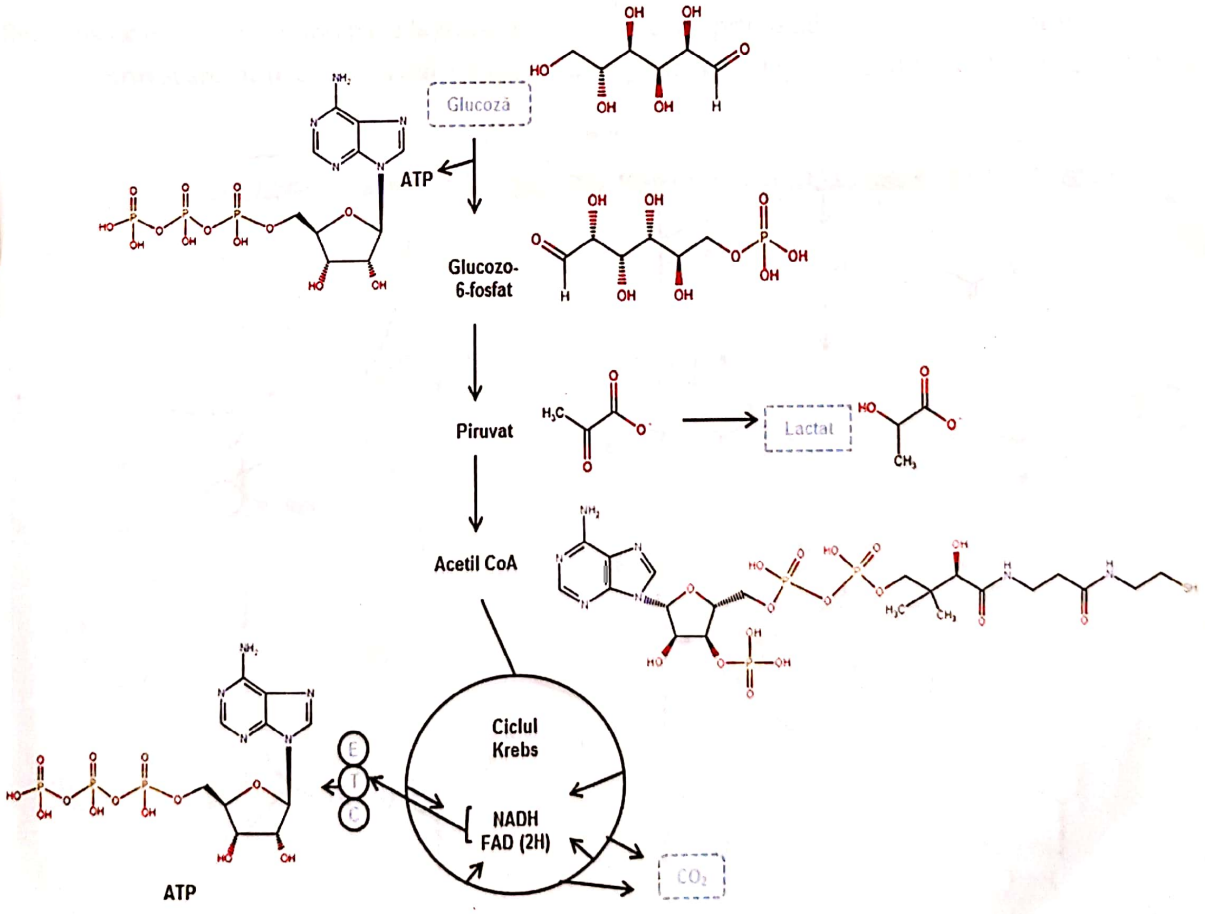


Fig. 9.24. Pentru a obține energie din glucoză, aceasta trebuie sa parcurgă procesul de glicoliză fie aeroba, fie ca degradarea incompletă până la piruvat sau la lactat în conditii de anaerobioză.

Scanned with OKEN Scanner

- se formează totodată NADH care este transportat din citosol în mitocondrie cu ajutorul sistemelor de transport ("shuttle system") și sunt apoi preluați de către lanțul respirator
- Prin aceste procese dintr-un mol de glucoză se obțin 30-32 moli de ATP.

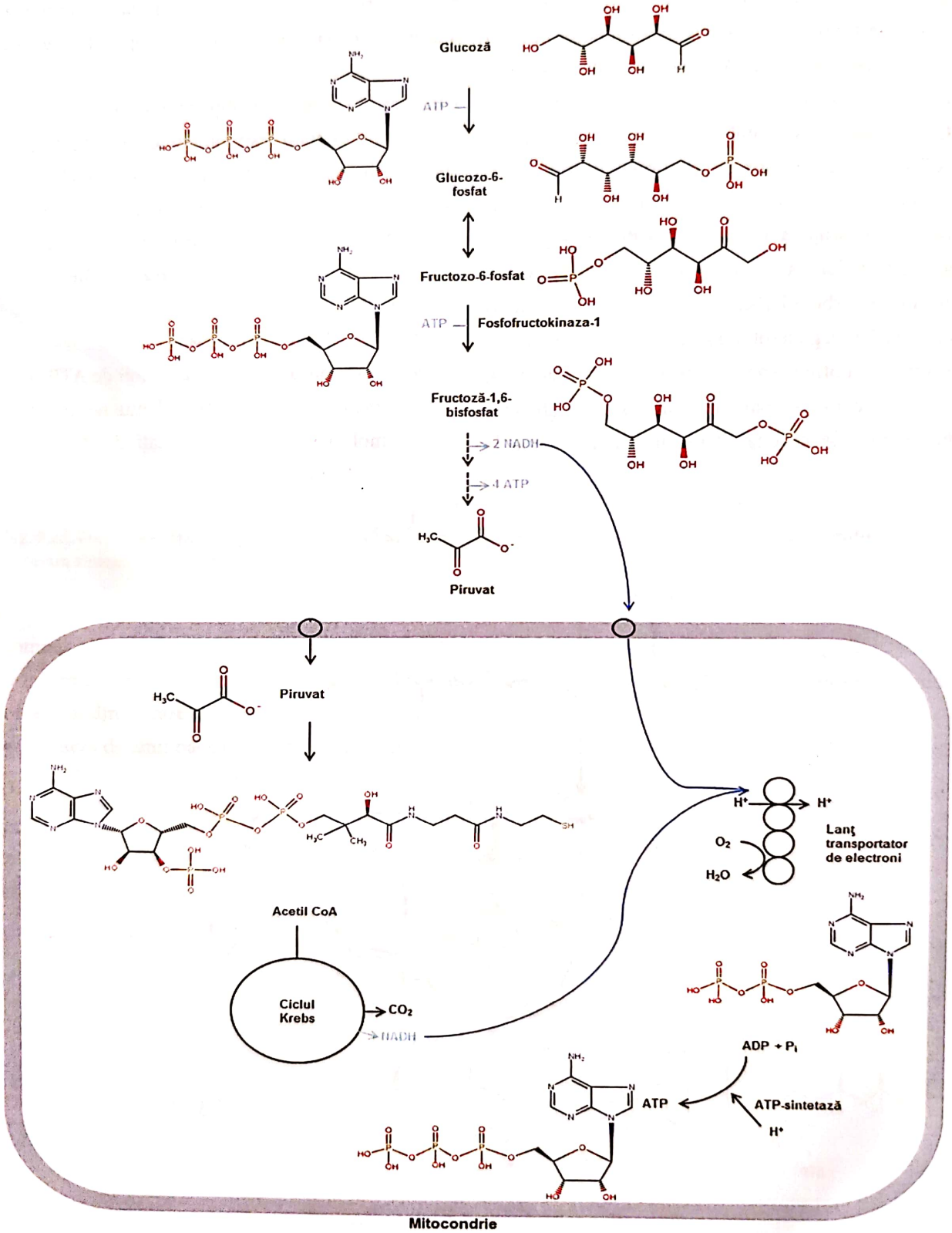


Fig. 9.25. Piruvatul patrunde in mitocondrii și generează acetil-CoA care urmeaza calea ciclului Krebs cuplat cu lanțul respirator și fosforilarea oxidativă.

Scanned with OKEN Scanner

În vederea obținerii ATP-ului, procesul de glicoliză poate fi împarțit în două mari faze (Fig. 9.26):

- faza I preparativă în care se consumă ATP;
- faza II de generare a ATP în care se formează 4 moli de ATP și 2 moli de NADH.

Angajarea glucozei într-o cale de metabolizare este obligatoriu precedată de fosforilare, o condiție esențială pentru rămânerea glucozei în celulă, cu *formarea glucozo-6-fosfatului, compus puternic încărcat electronegativ ce nu mai poate străbate membrana celulară*. Reacția este catalizată de glucokinază și reprezintă o etapă cheie de reglare a glicolizei.

Glucozo-6-fosfatul reprezintă o cale de răspântie metabolică care decide destinatia glucozei în funcție de necesitățile organismului către: glicoliză, calea pentozofosfaților, sau glicogenogeneză (Fig. 9.23).

Secvența de reacții a glicolizei pana la conversia glucozei in piruvat are loc in citosol si este schematizată în figura 9.27.

1. Conversia glucozo-6-fosfatului la triozofosfați

În următoarele trei etape ale glicolizei, glucozo-6-fosfatul este izomerizat la fructozo-6-fosfat, care este fosforilat la fructozo-1,6-bifosfat de către fosfofructokinază, reacție ce are loc cu consum de energie, și apoi clivat de către aldolază în doi triozofosfați, dihidroxiacetonfosfat și gliceraldehid-3-fosfatul.

Aceste două forme ale triozofosfaților sunt interconvertibile prin izomerizare până la stabilirea unui echilibru. Formarea gliceraldehid-3-fosfatului din dihidroxiacetonfosfat are loc pe măsură ce acesta se consumă (etapă limitantă de viteză în glicoliză).

2. *Conversia gliceraldehid-3-fosfatului la piruvat*

are loc prin oxidarea acestuia cu formarea de ATP. În această etapă gliceraldehid-3-fosfatul este trans-

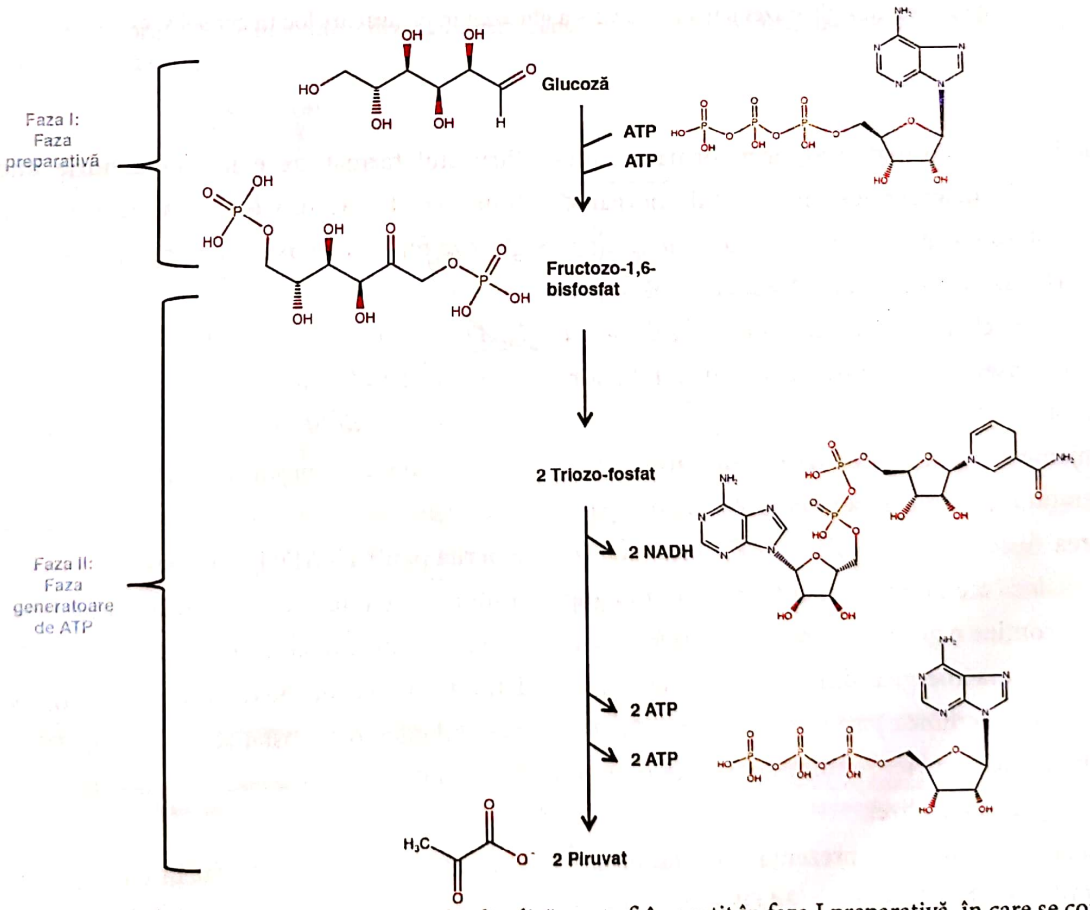


Fig 9.26. În vederea obținerii ATP-ului, procesul de glicoliză poate fi împarțit în faza I preparativă, în care se consumă ATP si faza II de generare a ATP.

Scanned with OKEN Scanner

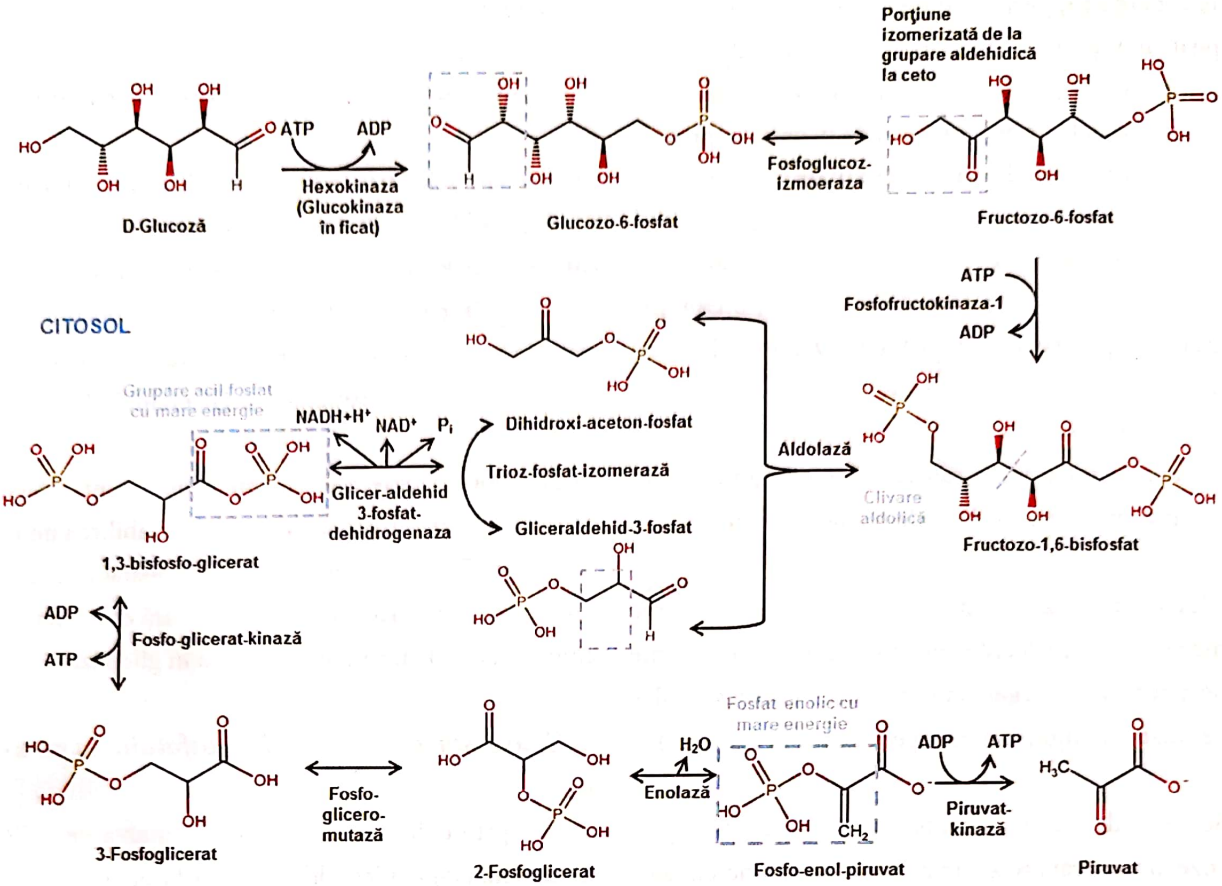


Fig 9.27. Secvența de reacții a glicolizei pana la conversia glucozei in piruvat are loc in citosol si este schematizată în figură

format în 1,3-bisfosfoglicerat prin formarea unei legături fosfat macroergice din fosfatul anorganic, reacție catalizată de *gliceraldehid-3-fosfatdehidrogenază* (NAD^+ dependentă). Aceasta etapă reprezintă o etapă cheie în controlul glicolizei deoarece are drept consecință eliberare a 2 moli de ATP și formarea 3-fosfogliceratului.

Rearanjamentul grupării fosfat cu formarea 2-fosfogliceratului și eliminarea unei molecule de apă si formarea fosfoenolpiruvatului (PEP), este catalizată de *enolază* are drept rezultat formarea unui gup enolic ce conține o grupare fosfat macroergică. Gruparea fosfat macroergică din PEP este transferată ADP-ului sub acțiunea *piruvatkinazei* cu formarea de ATP și acid piruvic. Aceasta constituie o etapă cheie în reglarea glicolizei.

Reactia netă a glicolizei în prezența oxigenului:

$GLUCOZA + 2NAD^+ + 2Pi + 2ADP \rightarrow 2Piruvat + 2NADH + 4H^+ + 2ATP + 2\ H2O$

Piruvatul format trece în mitocondrie unde este transformat în acetil-CoA, substrat al ciclului Krebs, glucoza fiind astfel oxidată complet (Fig. 9.28).

NADH-ul format reprezintă un inhibitor al glicolizei (inhibiție de substrat) și de aceea pentru a putea continua procesul de glicoliză este necesară îndepărtarea lui din citosol și angajarea lui în lanțul respirator, proces care are loc in mitocondrie. Prima navetă descoperită pentru NADH a fost naveta "glicerol-3-fosfatului", care este și cea mai răspândită (Fig. 9. 29). Unele țesuturi precum miocardul și țesutul nervos, dețin două mecanisme de transport de tip "shuttle": sistemul glicerol-3-fosfat și sistemul malat–aspartat (Fig. 9.30).

Piruvatul este redus la lactat în condiții de relativă *anaerobioză* (mușchi în condiții de maximă activitate, ficat, rinichi) sau în țesuturi care nu dispun de

Scanned with OKEN Scanner

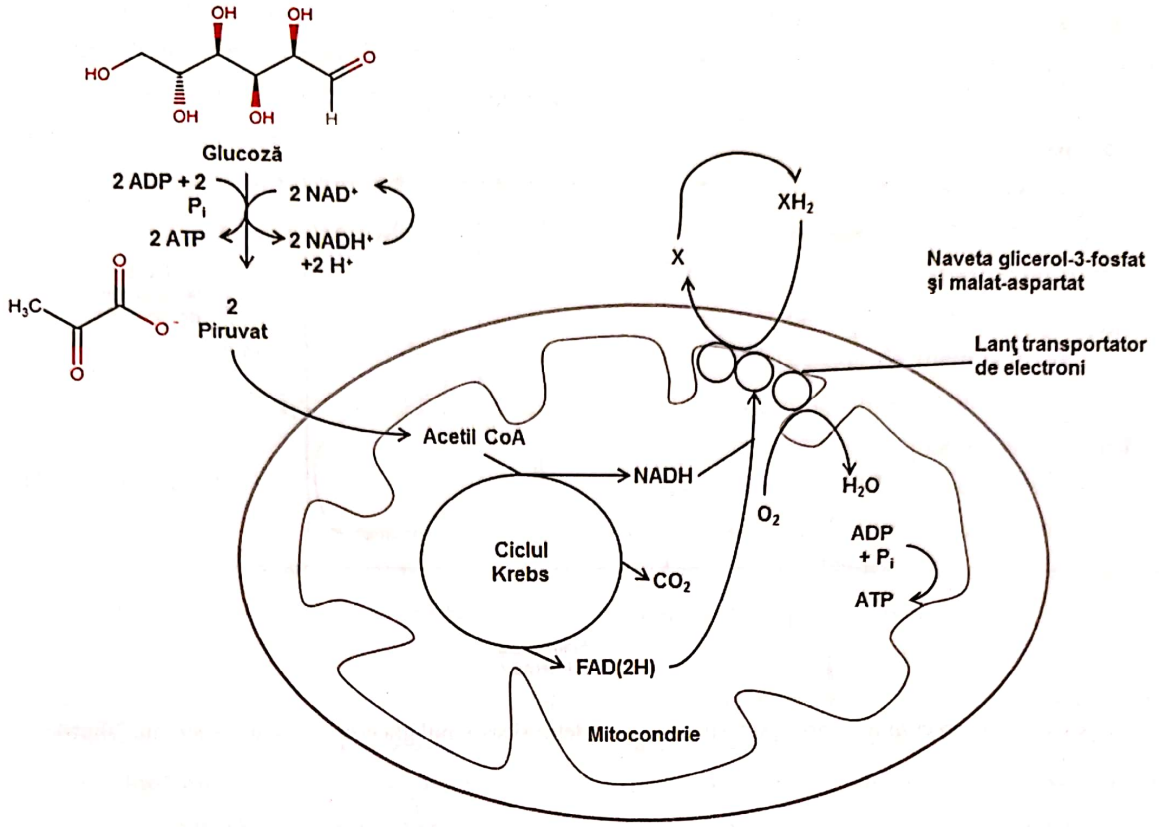


Fig 9.28. Piruvatul format trece în mitocondrie unde este transformat în acetil-CoA, substrat al ciclului Krebs, glucoza fiind astfel oxidată complet.

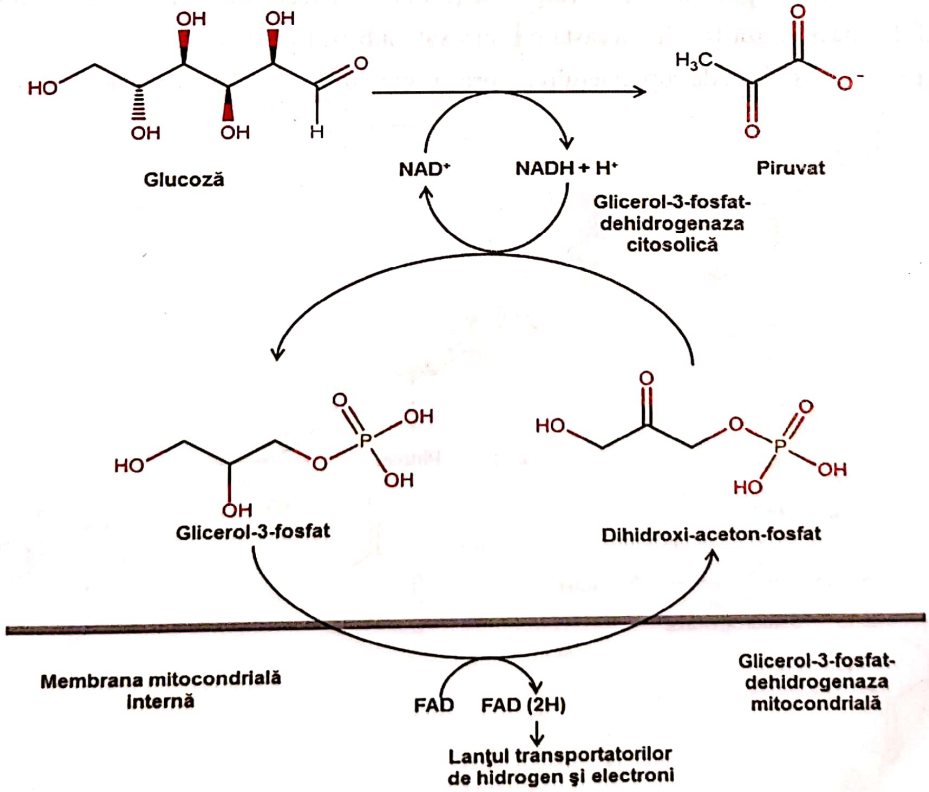


Fig 9.29. Prima navetă descoperită pentru NADH a fost naveta "glicerol-3-fosfatului", care este şi cea mai răspândită).

Scanned with OKEN Scanner

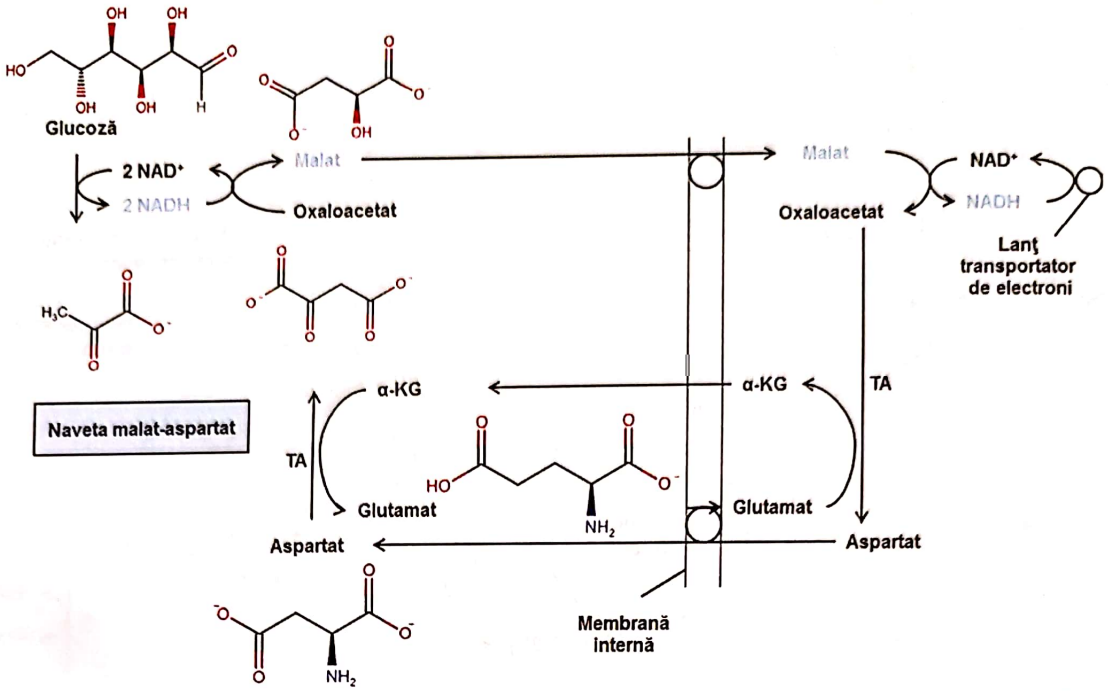


Fig 9.30. Unele țesuturi precum miocardul şi țesutul nervos, deţin si sistemul glicerol-3-fosfat şi sistemul "shuttle" malat–aspartat.

echipamentul enzimatic necesar metabolizării aerobe a glucozei (retina, țesuturile neoplazice, eritrocitele)(Fig. 9.31). Posibilitatea glicolizei de a funcționa în condiții de anaerobioză fac din aceasta o cale unică de sinteză a ATP şi deci, de supraviețuire, pentru unele țesuturi în condiții de hipoxie. Lactatul produs, prin intermediul circulației, este preluat de ficat, miocard şi rinichi unde este transformat în piruvat, substrat pentru gluconeogeneză.Țesuturile preiau glucoza rezultată din lactatul muscular şi o

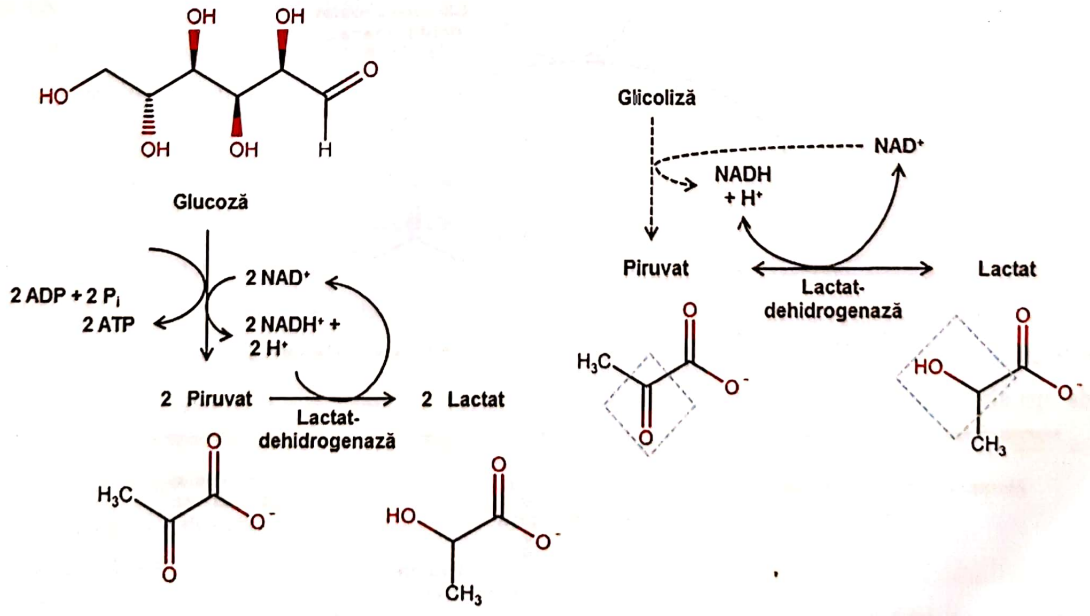


Fig 9.31. Piruvatul este redus la lactat în condiții de relativă anaerobioză

Scanned with OKEN Scanner

utilizează, formând din nou lactat. Acest proces este cunoscut sub numele de **ciclul Cori** (Fig. 9.32).
Glicoliza furnizează și ea compuși importanți pentru metabolismul intermediar (Fig. 9.33):

- pentoze, utilizate în sinteza acizilor nucleici
- glicerol și acetil-CoA, utilizate în procesul de neolipogeneză
- aminoacizi neesențiali
- acizi uronici, necesari sintezei de proteoglicani și proceselor de detoxifiere ale organismului.

Gluconeogeneza

Gluconeogeneza reprezintă procesul de sinteză a glucozei din precursori neglucidici (piruvat, aminoacizi, glicerol și lactat), ce se desfășoară cu precădere în ficat în condițiile epuizării rezervelor de glicogen (în condiții de post alimentar și parțial în perioadele interprandiale ce depășesc 7-8 ore)(Fig. 9.34).
La 2-3 ore după mese, se generează glucoza prin glicogenoliză, pe măsură ce rezervele de glicogen scad, se generează glucoza din acizi grași sau/și aminoacizi, în special alanina. Peste noapte nivelul glucozei în sânge este mentinut de glicogenoliză și gluconeogeneză (Fig. 9.35).

Dupa 30 de ore însă glicogenul este epuizat si nivelul glucozei este mentinut *numai* prin gluconeogeneza (Fig. 9.36). In condiții extreme gluconeogeneza are loc și în zona corticală renală, o mare parte din aceasta fiind utilizată de medulara ranală, o mica parte putând ajunge în circulație. În condiții normale, gluconeogeneza are loc cu intensitate redusă în mușchi și eritrocit fiind necesară reutilizării lactatului sau a glicerolului rezultat din degradarea triglicеridelor din țesutul adipos. La mamifere aceasta are loc în ficat și cortexul renal.

Gluconeogeneza decurge în cea mai mare parte prin parcurgerea în sens invers a glicolizei. Secvența de reacții ce alcătuiesc glicoliza și gluconeogeneza hepatică pana la produsul comun, fructozo-1,6-difosfat, sunt prezentate schematic in Fig. 9.37. *Trei dintre*

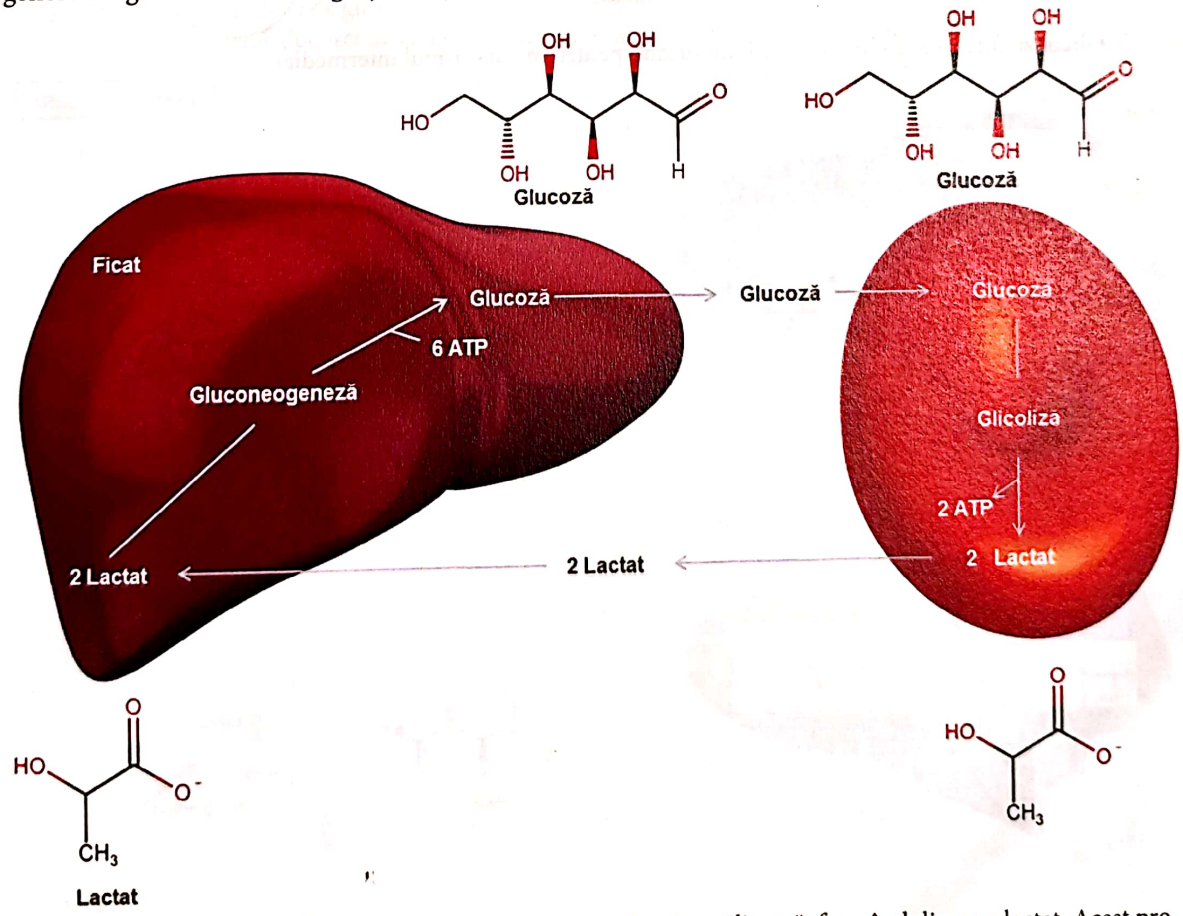


Fig 9.32. Țesuturile preiau glucoza rezultată din lactatul muscular și o utilizează, formând din nou lactat. Acest proces este cunoscut sub numele de ciclul Cori.

Scanned with OKEN Scanner

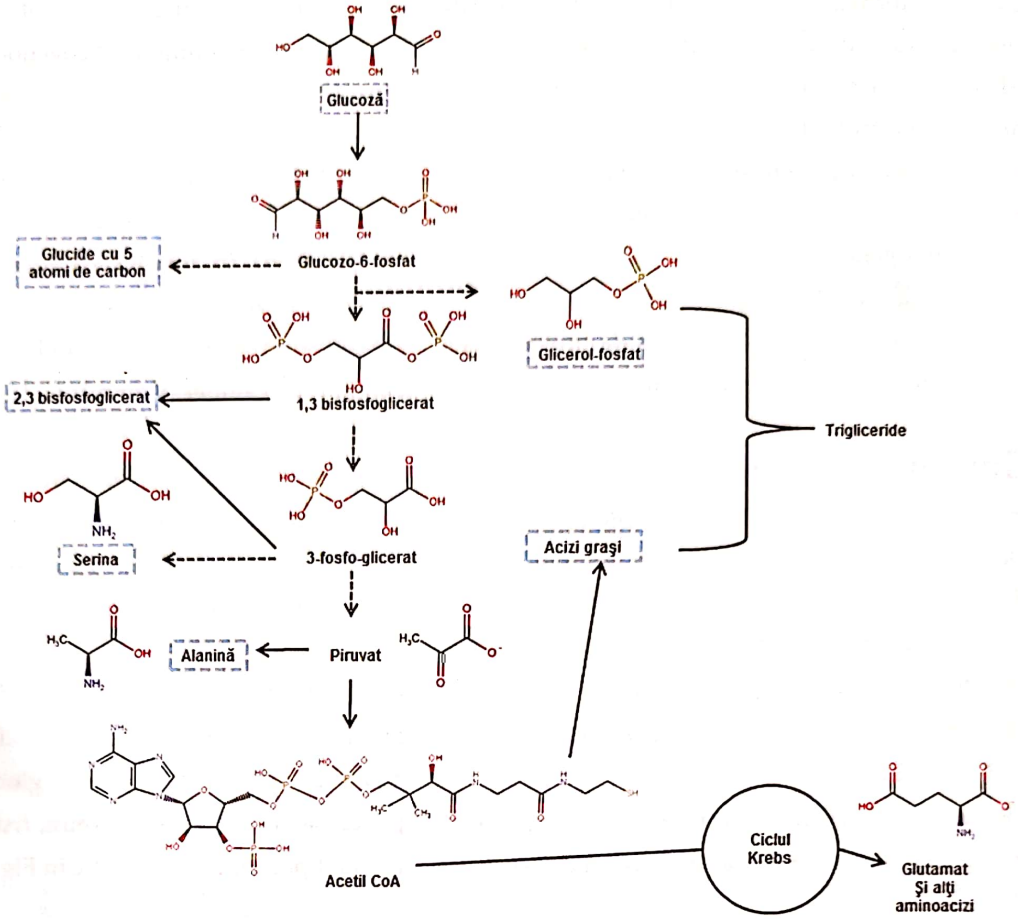


Fig 9.33. Glicoliza furnizează şi ea compuşi importanţi pentru metabolismul intermediar

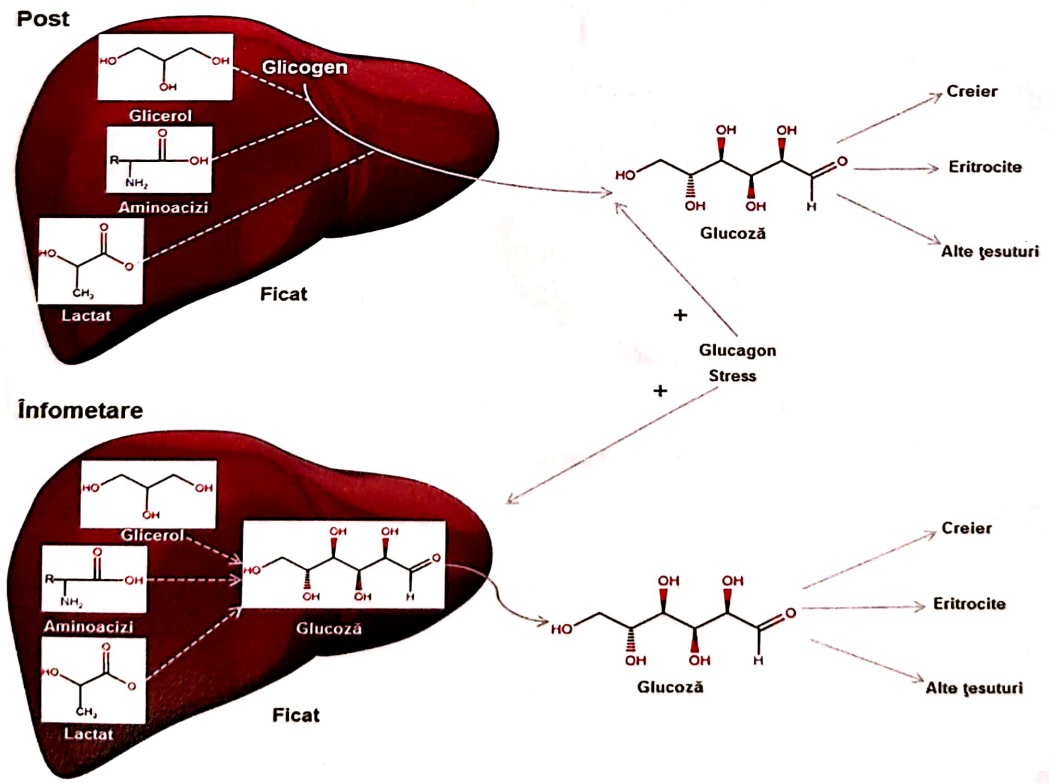


Fig 9.34. Gluconeogeneza reprezintă procesul de sinteză a glucozei din precursori neglucidici (piruvat, aminoacizi, glicerol şi lactat), ce se desfăşoară cu precădere în ficat în condiţiile epuizării rezervelor de glicogen.

Scanned with OKEN Scanner

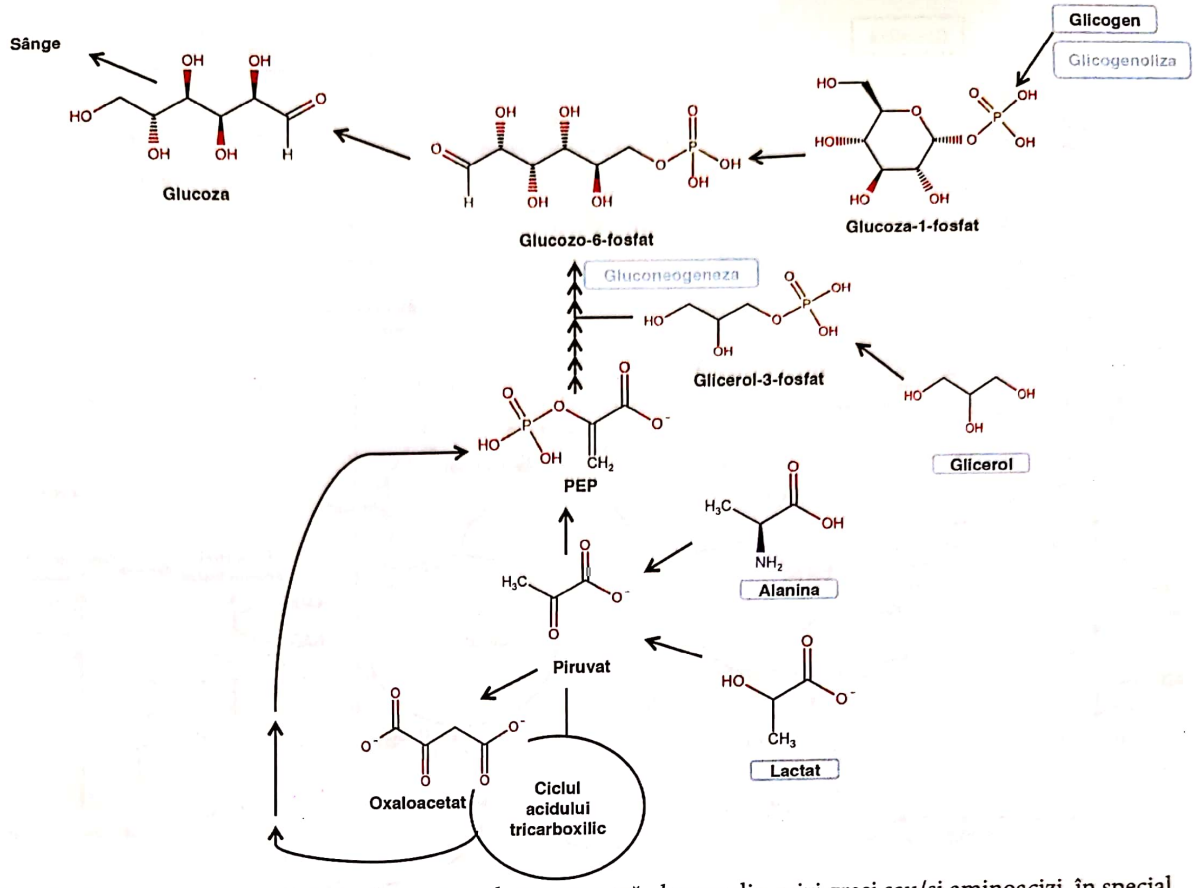


Fig 9.35. Pe măsură ce rezervele de glicogen scad, se generează glucoza din acizi graşi sau/şi aminoacizi, în special alanina. Peste noapte nivelul glucozei în sânge este mentinut de glicogenoliză şi gluconeogeneză.

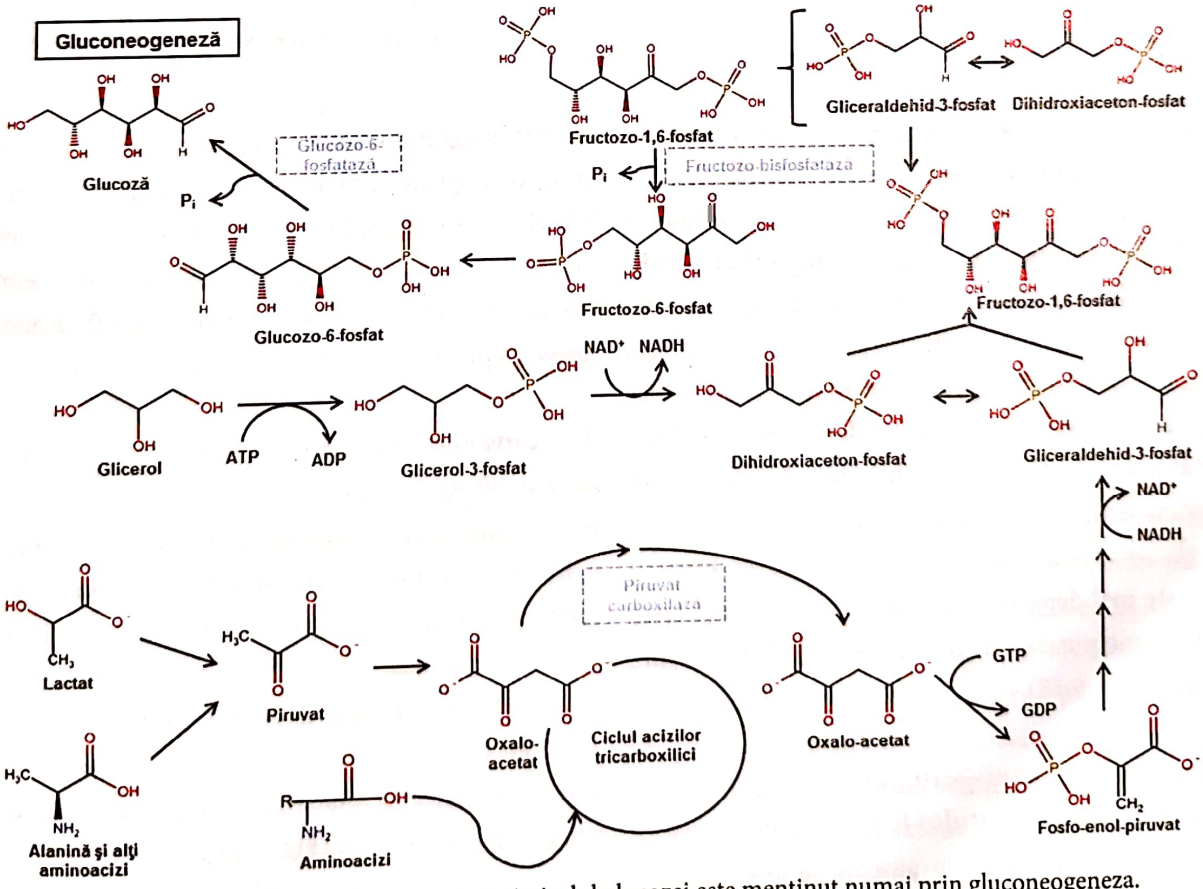


Fig 9.36. După 30 de ore glicogenul este epuizat şi nivelul glucozei este menţinut numai prin gluconeogeneza.

Scanned with OKEN Scanner

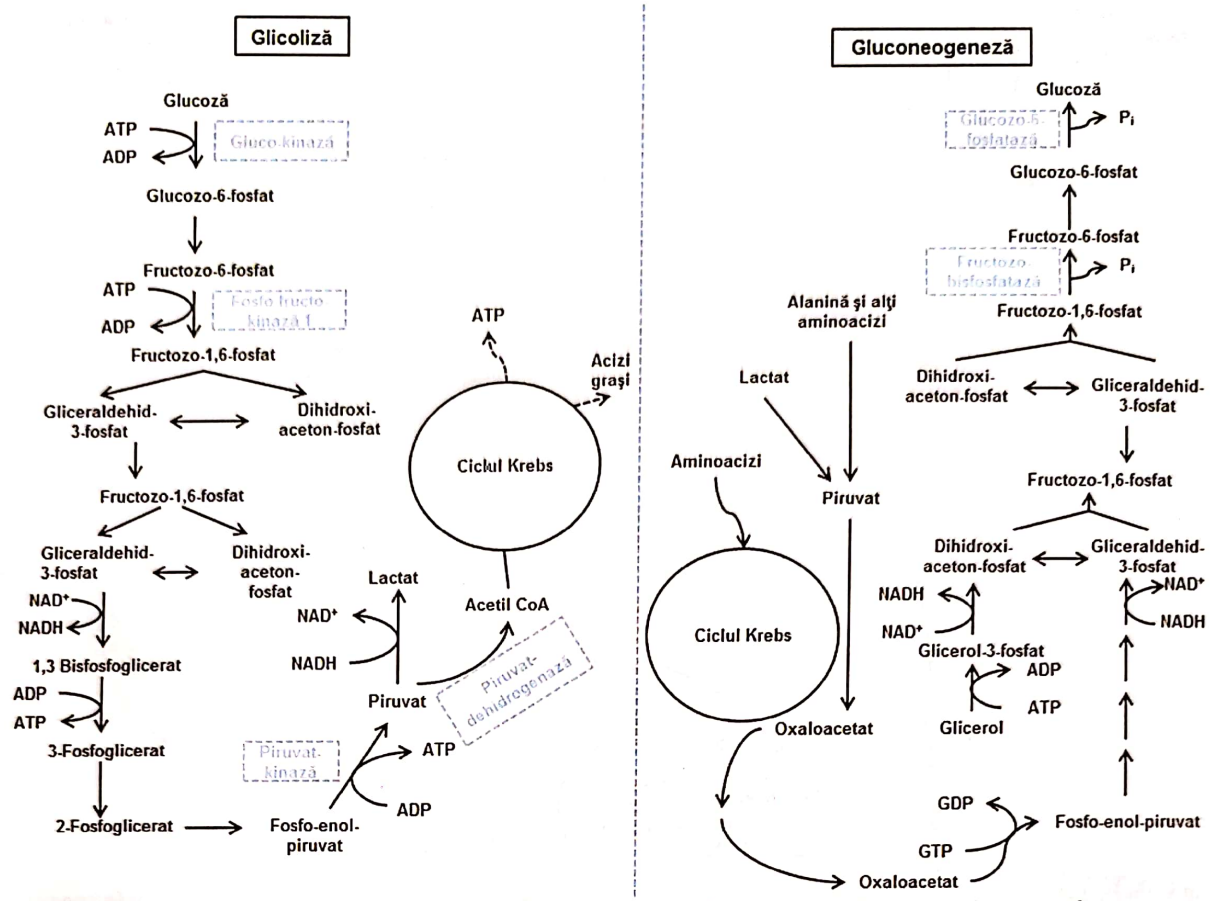


Fig 9.37. Secvența de reacții ce alcătuiesc glicoliza și gluconeogeneza hepatică pana la produsul comun, fructozo-1,6-difosfat.

aceste reacții (cele catalizate în glicoliză de către kinaze) sunt catalizate de enzime unidirecționale specifice gluconeogenezei care au mecanisme proprii de reglare. Gluconeogeneza evită astfel impasul energetic generat de parcurgerea în sens invers a acestor etape. Accesul proteinelor la gluconeogeneză are loc prin aminoacizi glucoformatori si este posibila prin convertirea lor în intermediari ai ciclului Krebs, oxaloacetat sau piruvat. Dintre aminoacizii glucoformatori alanina ocupă o poziție specială. Lactatul intră și el în gluconeogeneză prin conversie la piruvat. Piruvatul este mai departe convertit la oxaloacetat și apoi la fosfoenolpiruvat, angajându-se astfel în gluconeogeneză (Fig. 9.38).

Etapele gluconeogenezei

1. Conversia piruvatului la fosfoenolpiruvat

Oxaloacetatul generat din piruvat nu poate traversa membrana mitocondrială, de aceea este convertit la fosfoenolpiruvat, malat sau aspartat, în prezența NADH (vezi Fig. 9.30). Malatul și aspartatul trec din mitocondrie în citosol unde sunt reconvertite în oxaloacetat, un proces care generează NADH și apoi fosfoenolpiruvat (Fig. 9.37).

2. Conversia fosfoenolpiruvatului la fructozo-1,6-bifosfat

Fosfoenolpiruvatul parcurge calea inversă glicolizei până gliceraldehid 3 fosfat și dihidroxiacetonfosfat (DHAP), forme interconvertibile. Lipidele participă la gluconeogeneză prin componenta glicerol, care este convertit în ficat la glicerol 3 fosfat și apoi sub acțiunea unei *dehidrogenaze specifice* este transformat în dihidroxiacetonfosfat, intermediar al gluconeogenezei și glicolizei (Fig. 9.38A).

Scanned with OKEN Scanner

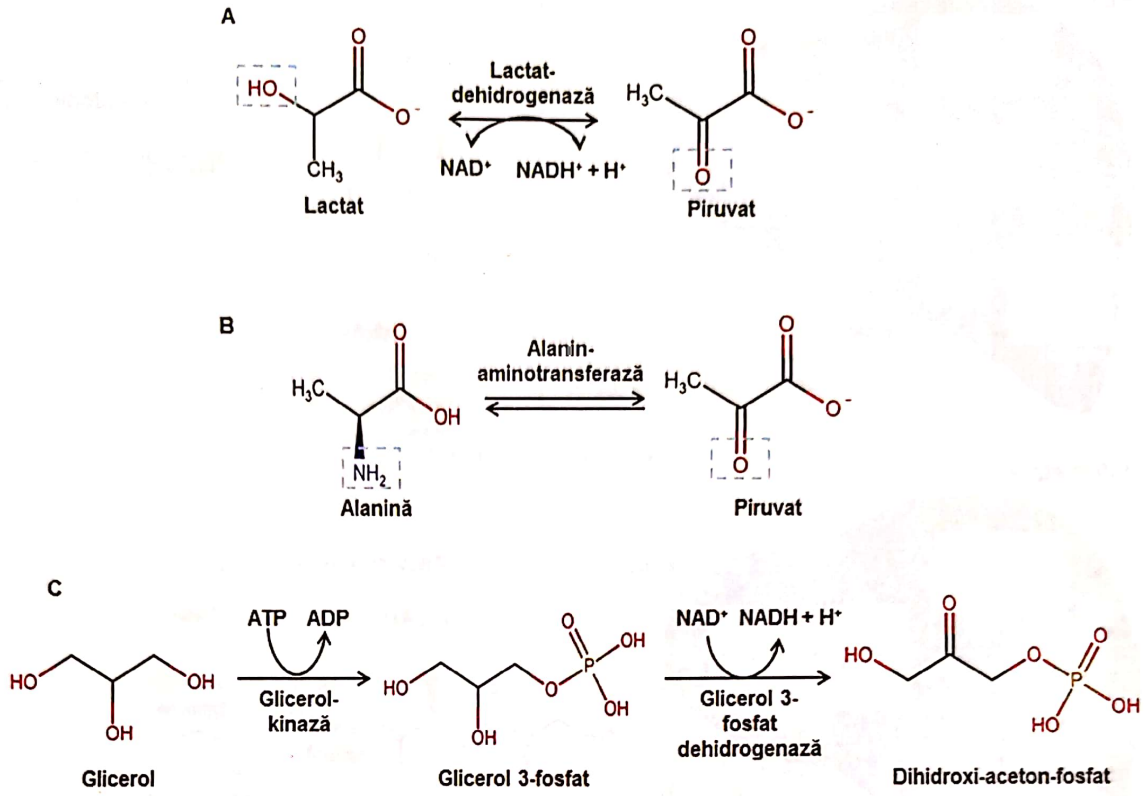


Fig 9.38. Etapele gluconeogenezei în detaliu.

3. Conversia fructozo 1,6 bifosfatului la fructozo-6-fosfat

Fructozo 1,6 fosfataza eliberează fosfatul din structura fructozo 1,6 bifosfatului cu formarea fructozo-6-fosfatului. În etapa următoare fructozo-6-fosfatul este izomerizat la glucozo-6-fosfat sub acțiunea unei *izomeraze*.

4. Conversia glucozo-6-fosfatului la glucoză

Glucozo-6-fosfataza clivează fosfatul din structura glucozo-6-fosfatului, glucoza este eliberată astfel în circulația sanguină.

Consumul excesiv de alcool blochează sinteza precursorilor gluconeogenezei deoarece metabolizarea lui hepatică consumă NAD^+ și produce NADH. Creșterea nivelului de NADH după ingestia de alcool favorizează formarea lactatului.

Alanina, un alt substrat major pentru gluconeogeneză furnizează piruvat care în condițiile creșterii nivelului NADH va fi transformat în lactat (Fig. 1.38B).

Glicerolul necesită NAD^+ pentru a forma dihidroxiacetonfosfat (intermediar al glicolizei și gluconeogenezei). În condițiile unui nivel scăzut al NAD^+ angajarea glicerolului în gluconeogeneză este blocată (Fig. 9.38C).

Angajarea glucozei într-o cale sau alta este determinată de starea metabolică a țesutului la momentul respectiv. În perioadele interprandiale, în cursul unei activități fizice sau intelectuale intense, glucoza reprezintă sursa principală de energie pentru țesuturile glucodependente, precum creierul care are capacitate limitată de a obține energia din alți compuși. Acestea obțin glucoza necesară prin glicogenoliză și gluconeogeneză hepatică (Fig. 9.34).

Scanned with OKEN Scanner

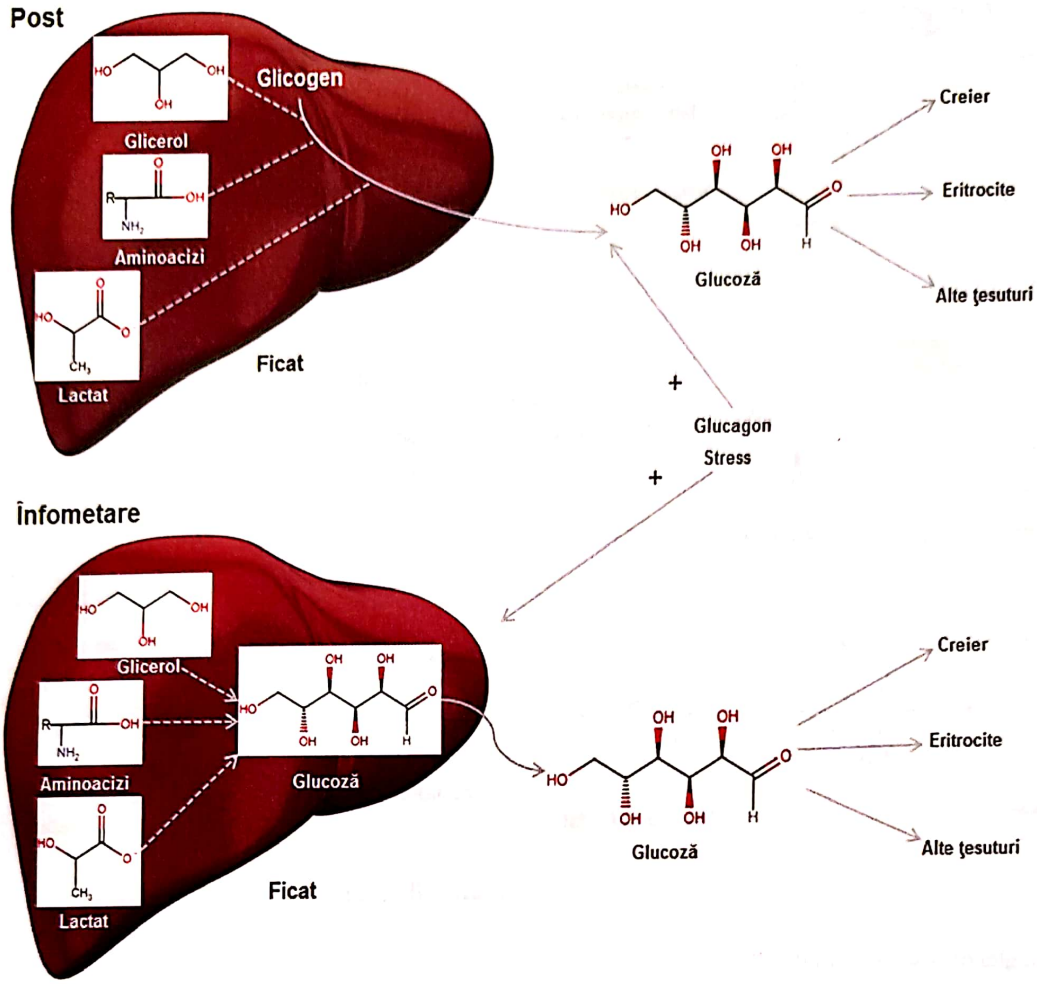


Fig 9.39. În conditii de post ficatul utilizează rezervele de glicogen pentru a menţine nivelul glicemiei. După un post prelungit şi înfometare dar şi în condiţii de stress, ficatul utilizează glicerolul, aminoacizii şi lactatul pentru a obţine glucoza prin gluconeogeneză.

În condiţii de post ficatul utilizează rezervele de glicogen pentru a menţine nivelul glicemiei. După un post prelungit şi înfometare dar şi în condiţii de stress, ficatul utilizează glicerolul, aminoacizii şi lactatul pentru a obţine glucoza prin gluconeogeneză (Fig. 9.39).

Reglare glicolizei şi gluconeogenezei

este realizată sub acţiunea enzimelor cheie ce catalizează reacţiile ireversibile diferite, asigurând astfel integrarea celor două procese în metabolismul celular, adaptarea intensităţii acestora la necesităţile organismului, precum şi funcţionarea asincronă a celor două procese, evitându-se astfel irosirea substratelor (Fig. 9.40).

Enzimele ce catalizează aceste trei reacţii sunt diferite în gluconeogeneză şi glicoliză (Fig. 9.41). Pentru gluconeogeneză reacţiile supuse controlului metabolic sunt:

- Piruvat →fosfoenolpiruvat - reacţie ireversibilă catalizată de *fosfoenol piruvatcarboxikinaza (PEPCK)*;
- Fructozo 1,6 difosfat→ fructozo- 6-fosfat – reacţie catalizată de *fructozo-1,6 –bisfosfataza*;
- Glucozo- 6-fosfat→ glucoză – reacţie catalizată de *glucozo-6-fosfataza*.

În glicoliză reacţiile supuse controlului metabolic sunt în principiu aceleaşi dar parcurse în sens invers sub acţiunea unor enzime specifice procesului de

Scanned with OKEN Scanner

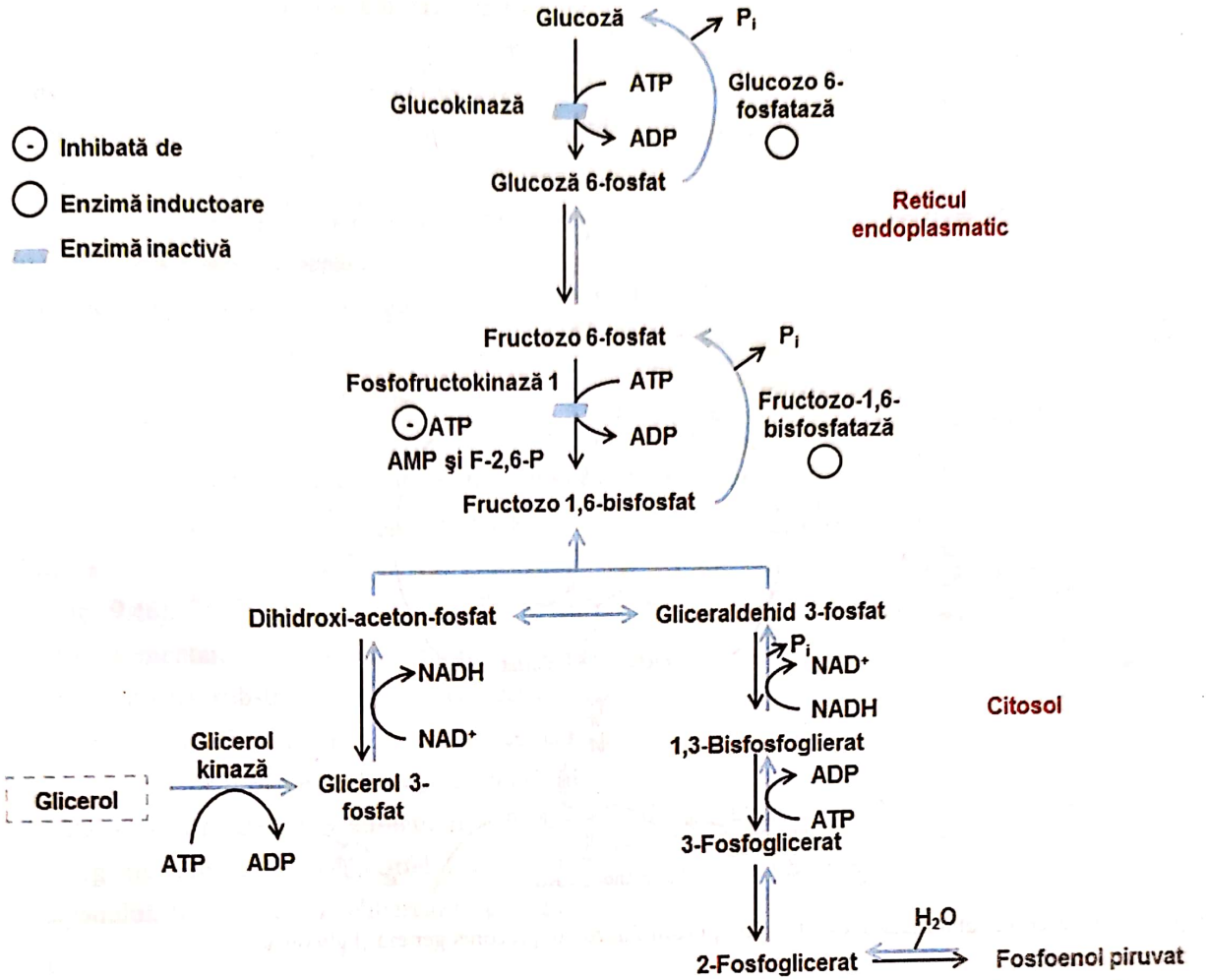


Fig 9.40. Angajarea glucozei într-o cale sau alta este determinată de starea metabolică a țesutului la momentul respectiv.

glicoliză, fiind şi ele reacţii ireversibile (Fig. 9.41):

- Glucoză → Glucozo- 6-fosfat – catalizată de *glucokinază*;
- Fructozo- 6-fosfat → Fructozo 1,6 difosfat – catalizată de *fosfofructokinază*;
- Fosfoenolpiruvat → Piruvat – catalizată de *piruvatkinază*.

Acestea sunt enzime alosterice a căror activitate este modulată de anumiţi efectori metabolici. De remarcat, faptul că efectorii pozitivi ai gluconeogenezei sunt efectori negativi ai glicolizei.

Reglarea procesului de gluconeogeneză şi glicoliză se realizează pe două căi:

- modularea activitaţii enzimelor cheie de către anumiţi efectori metabolici (AMP, ATP, citrat, substrate etc) (Fig. 9.41):
- prin reglare hormonală, cu participarea ficatului, tesutului adipos si a muschilor, sub control central (Fig. 9.42).

Insulina şi glucagonul sunt principalii hormoni care menţin concentraţia glucozei sanguine (glicemia) în limite normale (80-100mg/dl), acţionând asupra glucidelor, lipidelor şi proteinelor. Atât insulina cât şi glucagonul sunt sintetizaţi de către pancreas.

În faza anabolică, fază caracterizată prin abundenţa de substrate energogene, creşte nivelul insulinei care stimulează glicoliza, sinteza proteinelor, acizilor grasi si refacerea rezervelor de glicogen in ficat (Fig. 1.42). *În condiţiile secreţiei de insulină, lipoliza este inhibată iar glicoliza stimulată, condiţie nefavorabilă desfăşurării gluconeogenez i. e* (Fig. 9.43).

Scanned with OKEN Scanner

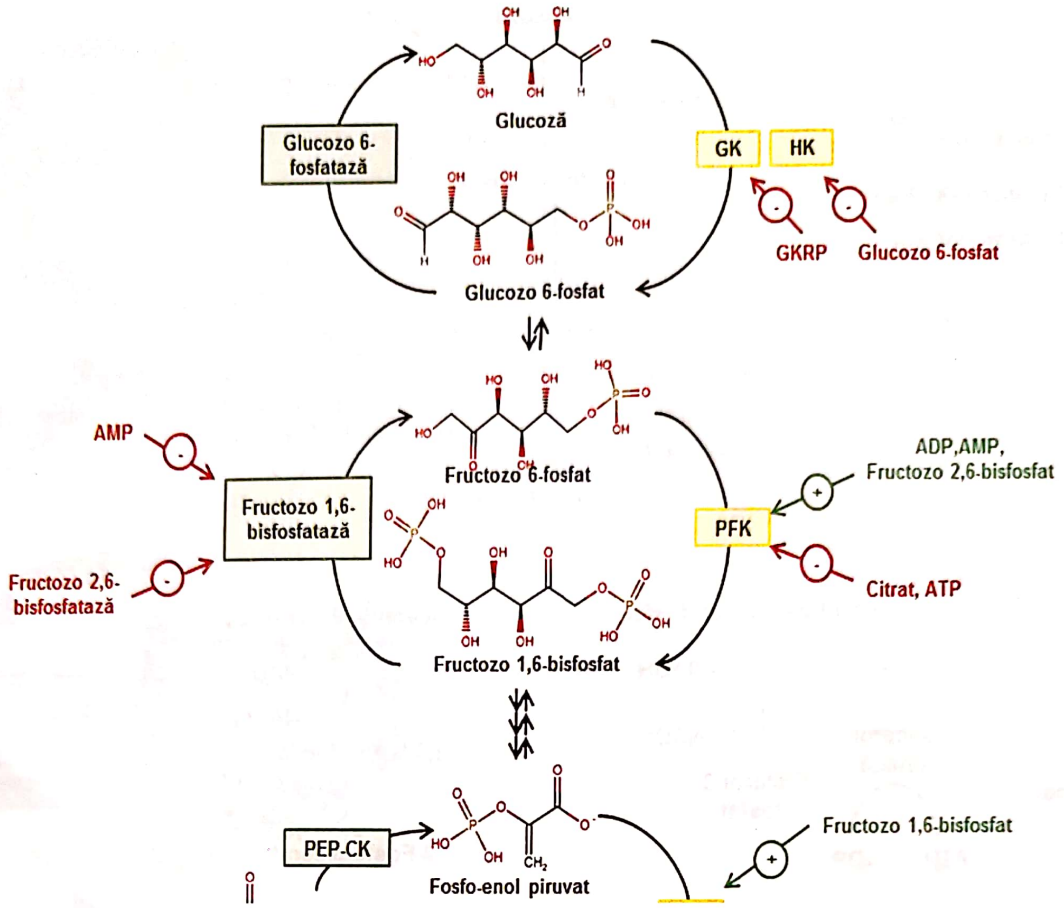


Fig 9.41. Enzimele ce catalizează aceste trei reacţii sunt diferite în gluconeogeneză şi glicoliză.

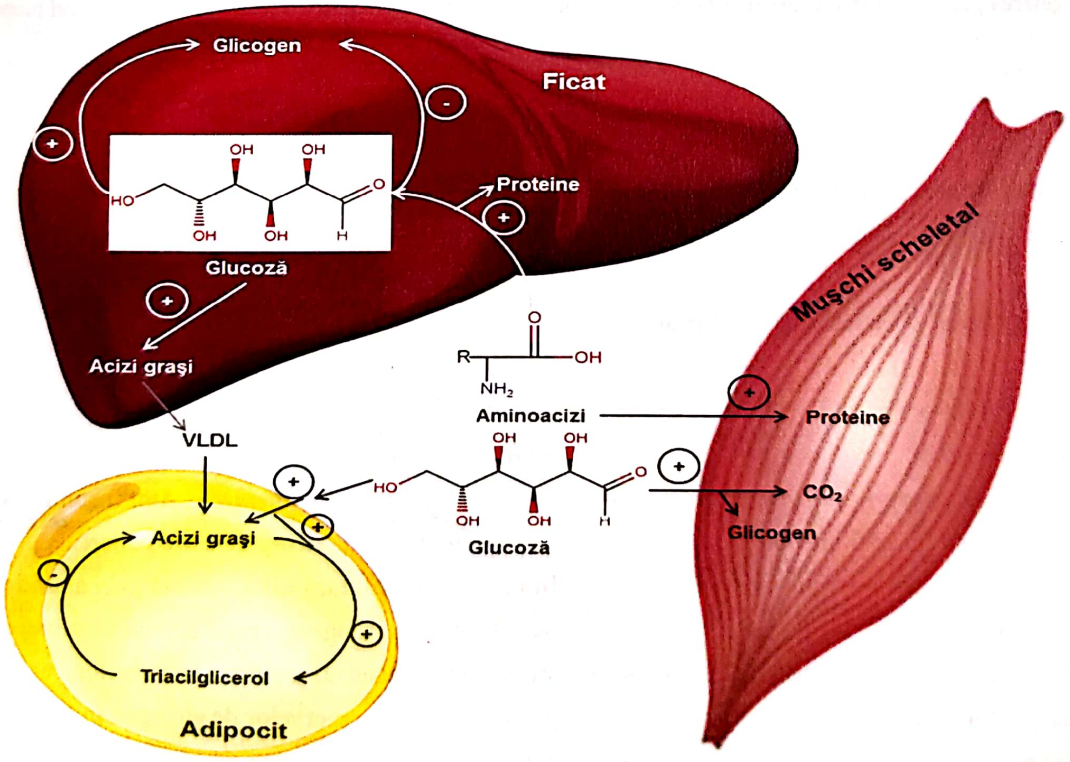


Fig 9.42. Reglarea hormonală a procesului de gluconeogeneză şi glicoliză cu participarea ficatului, tesutului adipos şi a muşchilor, sub control central

Scanned with OKEN Scanner

Prezența glucokinazei în ficat conferă acestuia un loc central în captarea glucozei prin intermediul transportorului GLUT4 care dintr-o localizare intracelulară veziculară, in prezenta complexului insulină-receptor insulinic, este translocat si inserat in membrana citoplasmatică permitand astfel intrarea glucozei in celulă și menținerea glicemiei (Fig. 9.44). Transcrierea genelor ce codifică glucokinaza și piruvatkinaza (enzime cheie) este activată de insulină prin intermediul factorilor de transcripție (SREBP și respectiv ChREBP) (Fig. 9.45).

Principalele mecanisme de acțiune ale insulinei se exercită la nivelul ficatului, mușchilor și țesutului adipos și sunt antagoniste cu cele ale glucagonului (Fig. 9.46). Dimineata, dupa o noapte lipsită de aport alimentar, când nivelul insulinei scade ca urmare a scăderii substratelor energetice, crește nivelul glucagonului (hormonul fazei catabolice) care va inița o serie de procese destinate menținerii nivelulului glicemiei, respectiv alimentarea cu energie a organismului (Fig. 9.47). Astfel, sub acțiunea glucagonului, țesutul adipos eliberează acizi grași

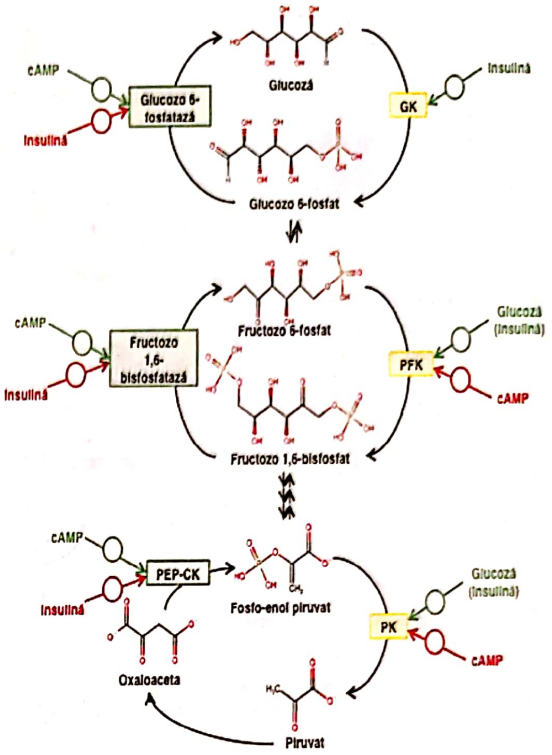


Fig 9.43. În faza anabolică, fază caracterizată prin abundența de substrate energogene, crește nivelul insulinei care stimulează glicoliza

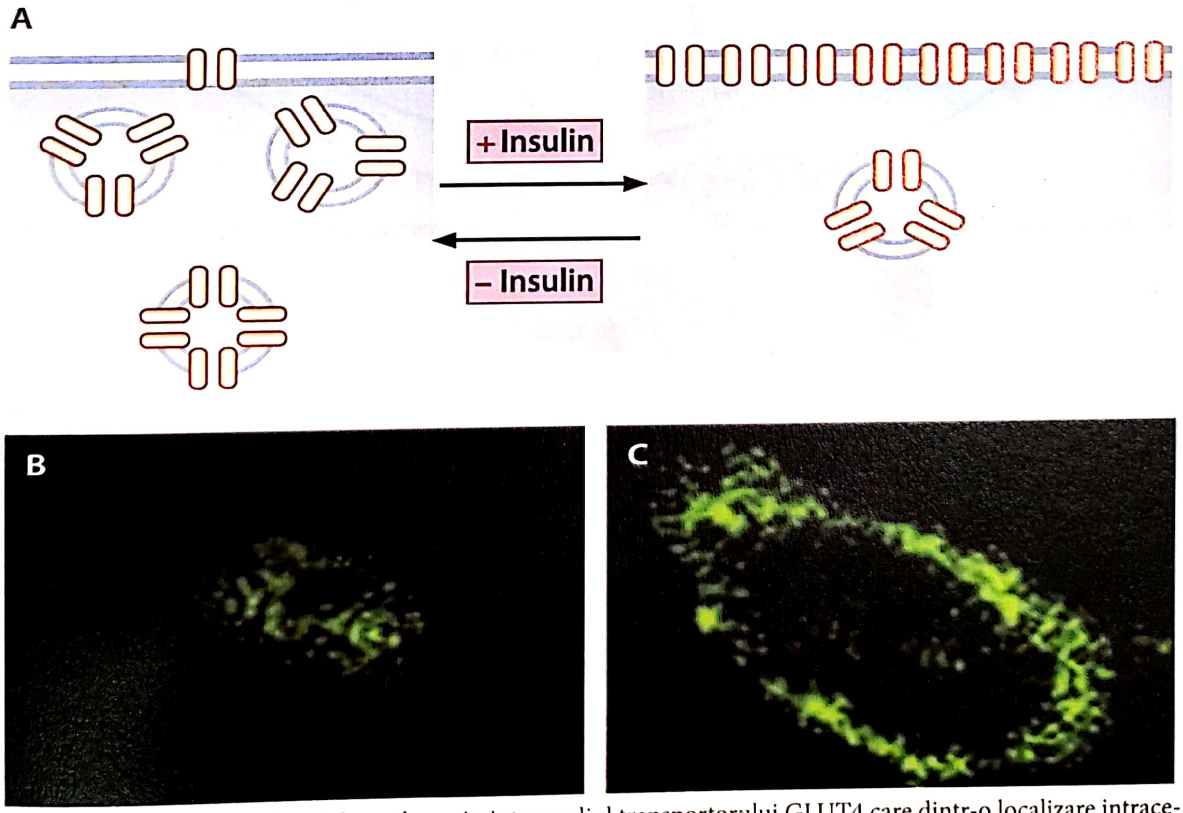


Fig 9.44. Captarea glucozei de celule are loc prin intermediul transportorului GLUT4 care dintr-o localizare intracelulară veziculară, in prezenta complexului insulină-receptor insulinic, este translocat si inserat in membrana citoplasmatică permitand astfel intrarea glucozei in celulă și menținerea glicemiei.

Scanned with OKEN Scanner

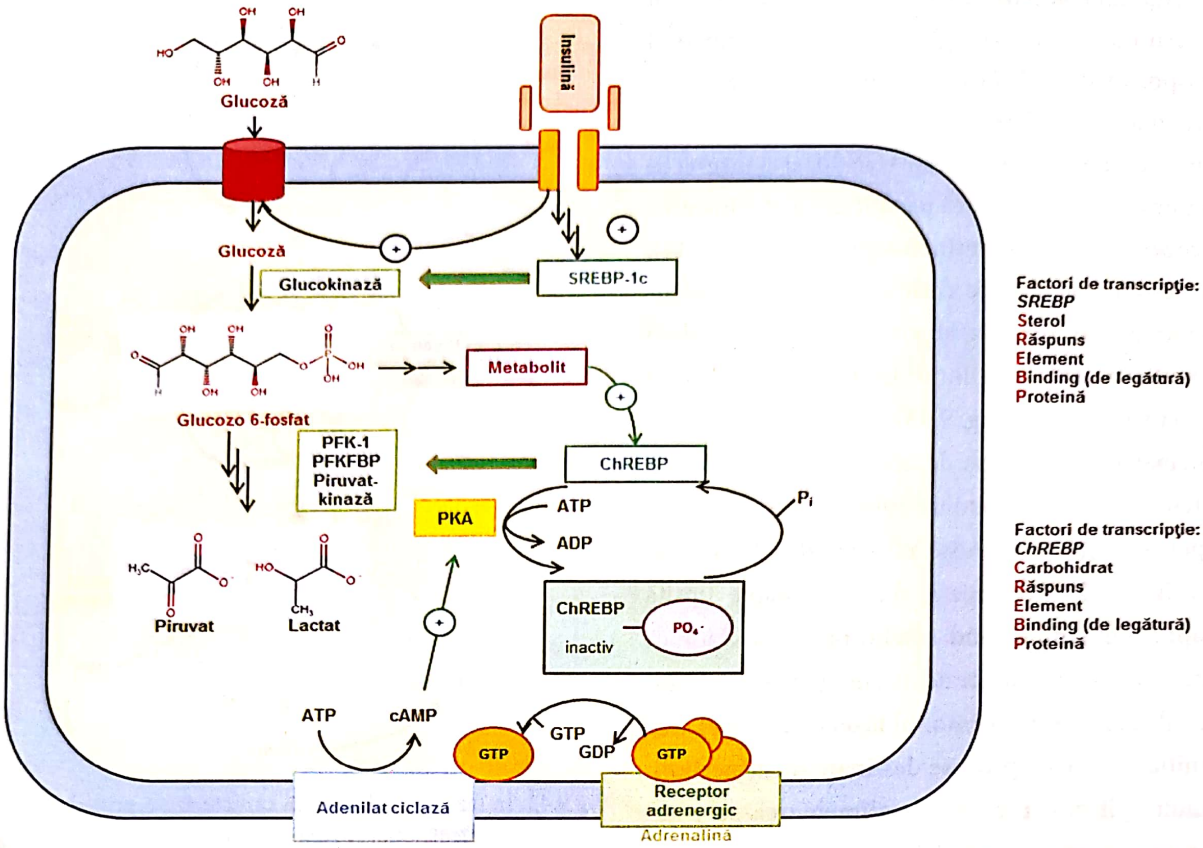


Fig 9.45. Transcrierea genelor ce codifică glucokinaza şi piruvatkinaza este activată de insulină prin intermediul factorilor de transcripţie, SREBP şi respectiv ChREBP

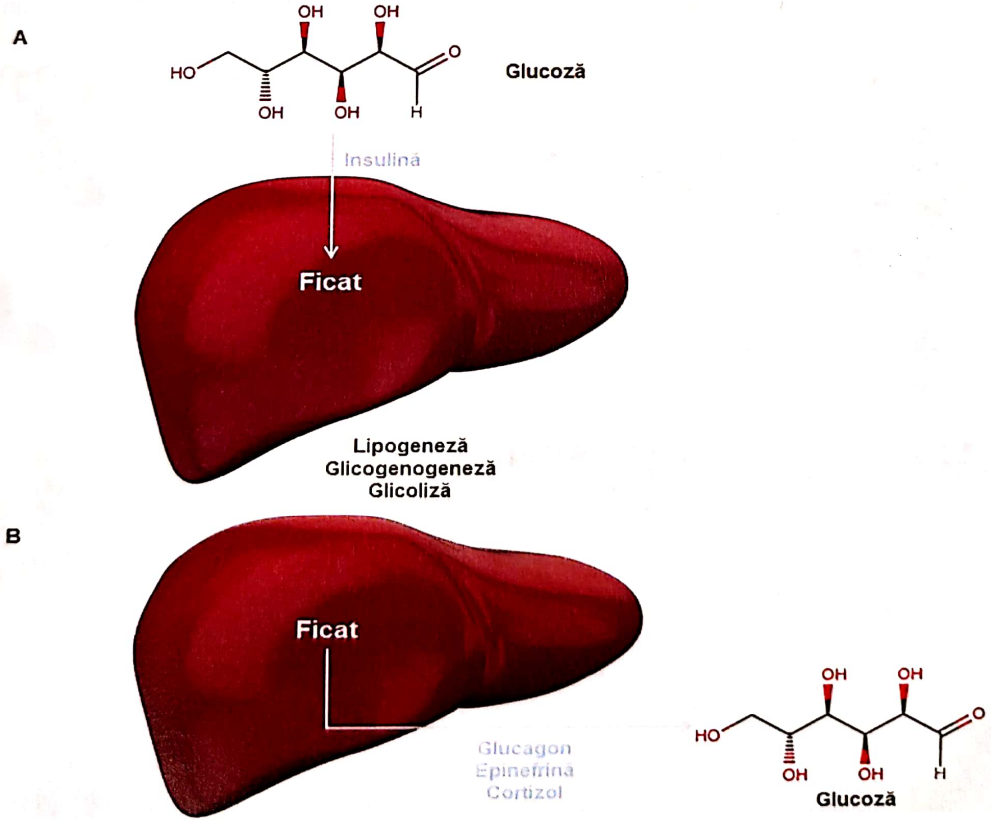


Fig 9.46. . La câteva ore după masă când nivelul insulinei scade, creşte nivelul glucagonului menţinându-se astfel nivelul glicemiei.

Scanned with OKEN Scanner

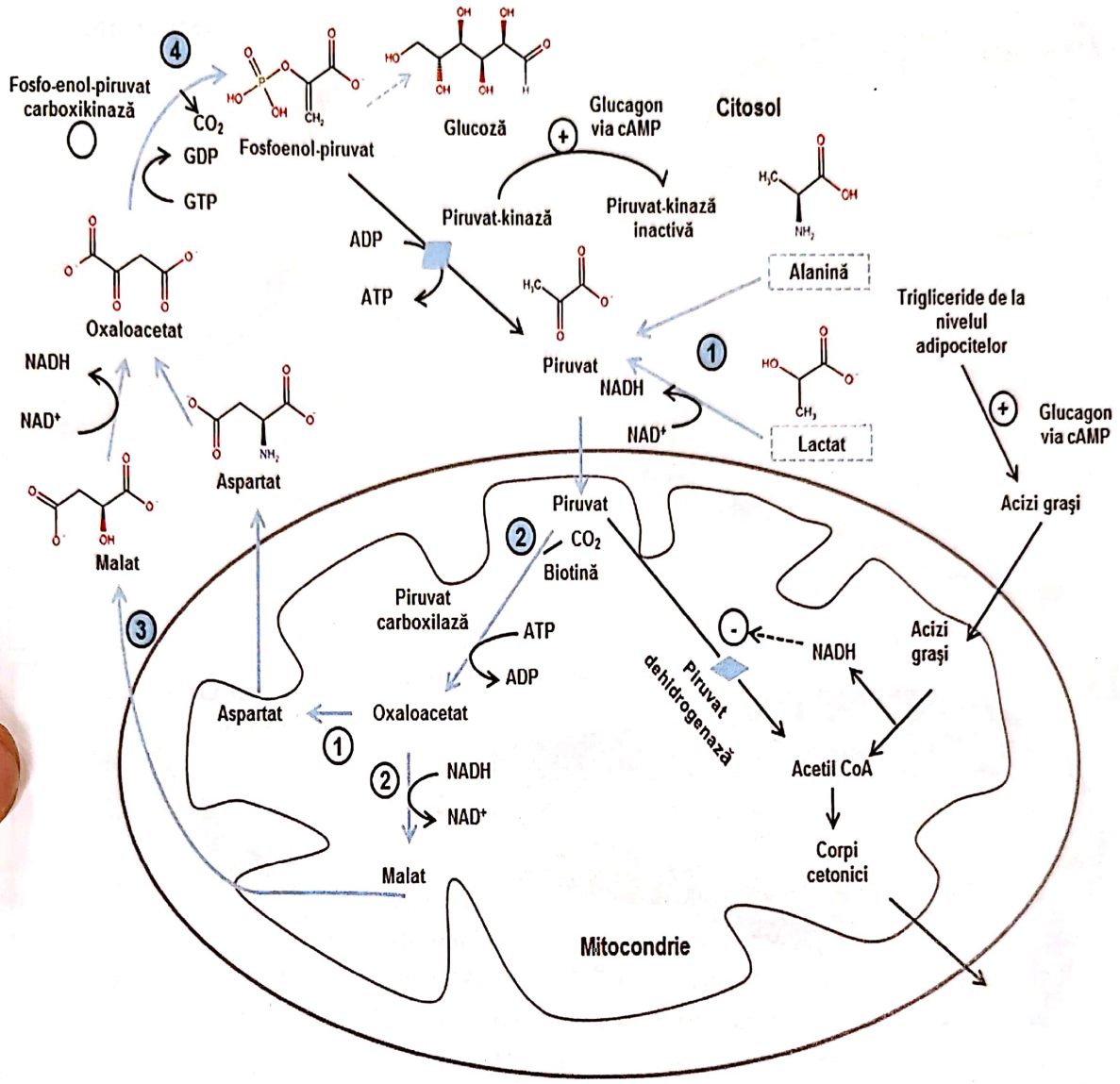


Fig 9.47.Reglarea glicolizei si gluconeogenezei este realizată sub acțiunea enzimelor cheie ce catalizează reacțiile ireversibile diferite.

și glicerol prin hidroliza grăsimilor. Acizii grași și glicerolul sunt preluați de ficat care generează din glicerol, glucoza prin gluconeogeneză și corpi cetonici care sunt eliberati în circulație și preluați de mușchi cu generare de energie (ATP). Glucoza va fi utilizată în primul rând de creier și de eritrocite care sunt dependente de glucoză. Eritrocitele convertesc glucoza în acid lactic, care este preluat de ficat și folosit în gluconeogeneză. Acizii grași eliberați de adipocite pot fi preluați și de către mușchi, convertiți la acetil-CoA care intră în ciclul Krebs în vederea obținerii de energie (ATP) prin lanțul respirator. Mușchii contribuie de asemenea la menținerea glicemiei prin hidroliza proteinelor care generează aminoacizi glucoformatori, în special, alanina, care sunt preluați de ficat și intră în calea gluconeogenezei (Fig. 9.48A). Glucagonul stimulează glicogenoliza și lipoliza- eliberarea acizilor grași în sânge prin hidroliza grăsimilor dar nu are efecte metabolice esențiale asupra mușchilor (Fig. 9.48B).

Patobiochimie

Glucoza ocupă un loc central în metabolismul celulei. Este o sursă universală de energie dar si sursa

Scanned with OKEN Scanner

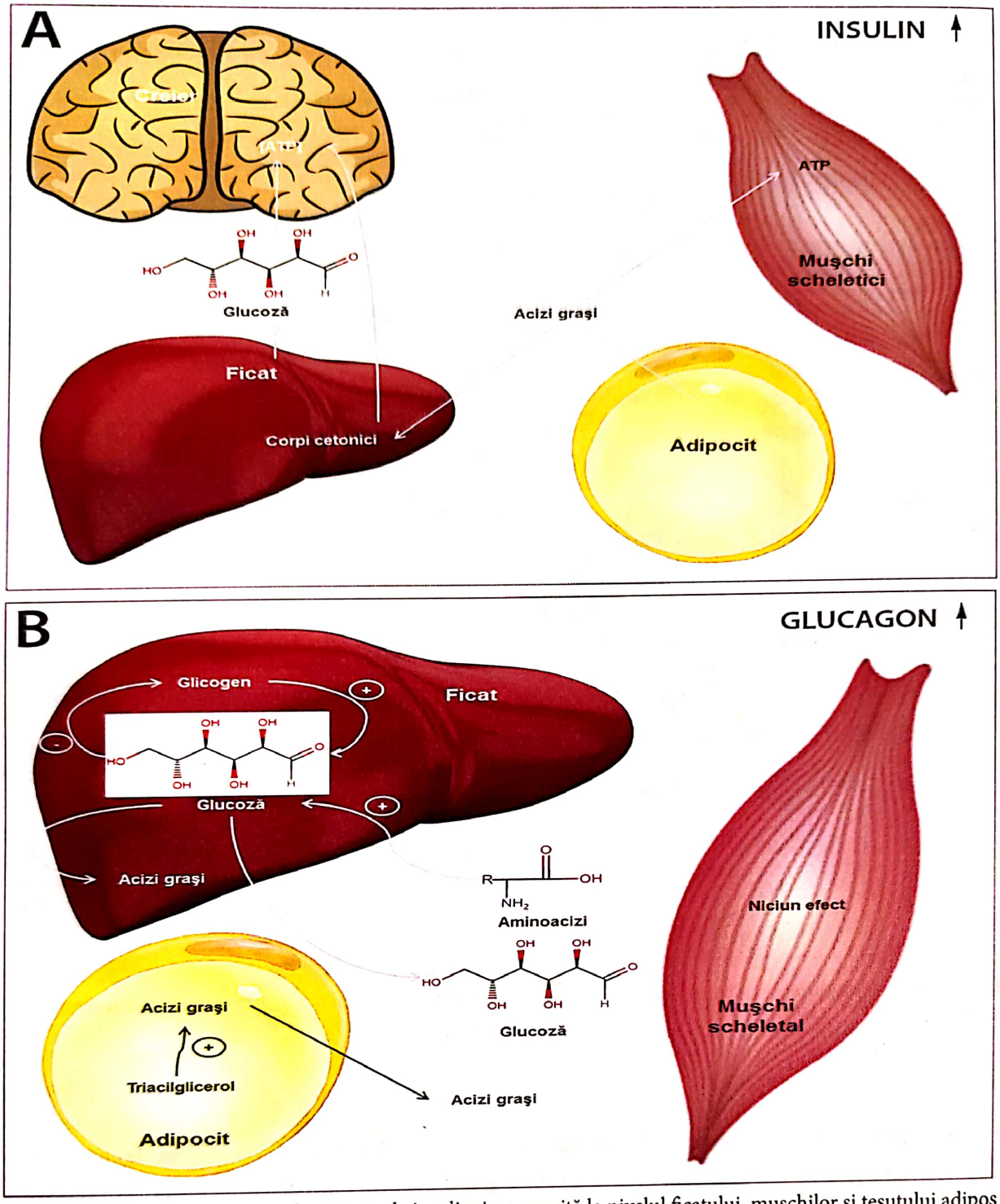


Fig 9.48. .Principalele mecanisme de acţiune ale insulinei se exercită la nivelul ficatului, muşchilor şi ţesutului adipos şi sunt antagoniste cu cele ale glucagonului

de atomi de carbon pt majoritateta compusilor celulari. *După un prânz bogat în glucide, concentraţia glucozei sanguine a unui individ normal creşte de la 80-100mg/dl până la 120-140mg/dl atingând maximul între 30min şi 1 oră.* După această perioadă concentraţia glucozei serice începe să scadă revenind la normal după aproximativ 2 ore. (Fig. 9.49.). Boli frecvente cauzate de tulburari in metabolismul glucozei sunt:

- Diabetul zaharat caracterizat prin hiperglicemie şi hipoinsulinemie;
- Hiperinsulinemia caracterizată prin hipoglice-

Scanned with OKEN Scanner

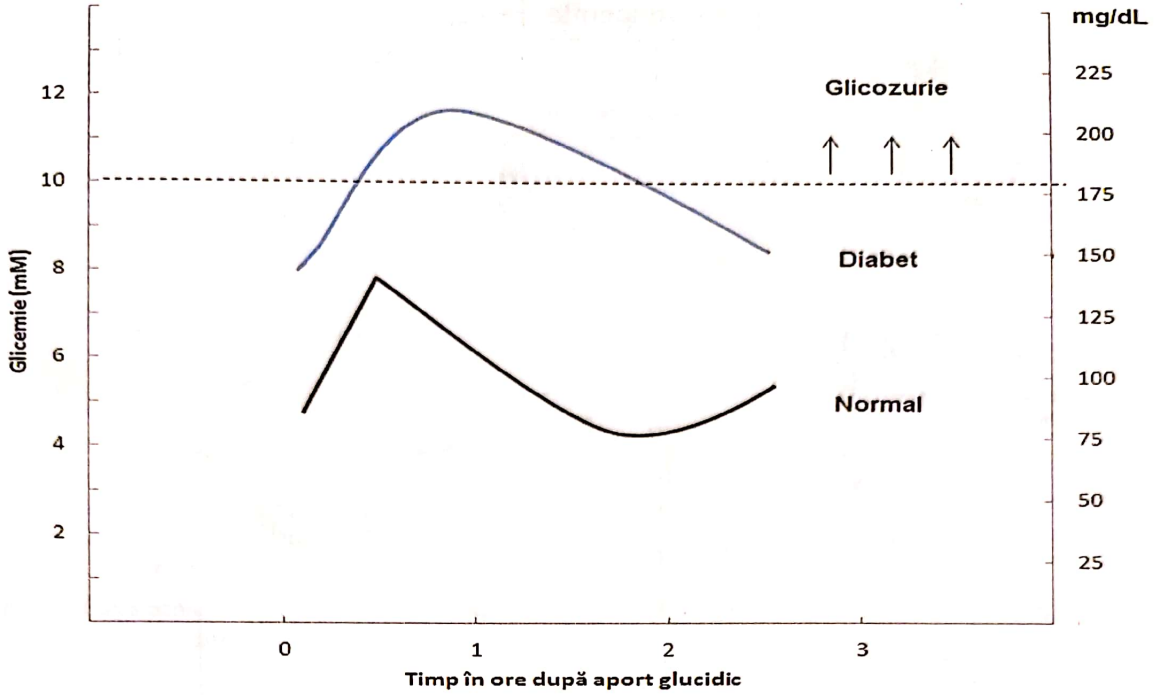


Fig 9.49. Concentrația glucozei serice

mie.

Hipoglicemia reprezintă scaderea concentratiei de glucoza sub 4 mmol/L. Deoarece sistemul nervos central (SNC) este dependent de aportul de glucoză, acesta solicită intensificarea glicogenolizei si gluconeogenezei prin stimularea secretiei de catecolamine (Fig. 9.50). Secreția de catecolamine determină următoarele simptome clinice: senzația de foame, palpitații, transpirație.

Dacă nivelul glucozei nu revine apar simptome ale SNC: tremurat, tulburări neurologice, pierderea partială de cunostiință care în cazuri extreme conduc la apariția comei hipoglicemice.

Principalele cauze ale hipoglicemiei sunt: insuficienta de carbohidrați în hrana nou născuților care încă nu au sistemele enzimatice adaptate la necesar; intoxicație alcoolică; tumori ale celulelor pancreatice de tip ß (insulele Langerhans) care secretă un exces de insulină ce în lipsa unei reglări a secreției duce la o gravă hipoglicemie; acidoza lactică (concentratia lactatului in sânge depășește 1,2-1,5 mmol/L); după atacuri epileptice; în stările de șoc.

Testul oral de toleranță la glucoză reprezintă unul din testele cele mai utilizate în diagnosticul diabetului zaharat si consta in administrarea a 75 g de glucoza si urmarirea evolutiei glicemiei serice timp de 2 ore. La un subiect diabetic, hiperglicemia inițială este superioară unei persoane sănătoase, la o oră după aportul de glucide, iar revenirea la normal se face lent fără starea de hipoglicemie tranzitorie (Fig.9.51). Determinarea proteinelor glicozilate este de asemenea un indicator prețios al hiperglicemiei cronice.

Calea pentozofosfaților

Reprezintă o cale alternativă de metabolizare a glucozo-6-fosfatului, intermediar al glicolizei, cale prin care se generează NADPH (necesar biosintezelor reductive) și pentoze necesare biosintezei nucleotidelor și acizilor nucleici. Este cunoscută și sub denumirea de șuntul pentozofosfaților (Fig. 9.52). Această denumire se datorează faptului că această cale are loc în citosol și ocolește o serie de etape glicolitice (cale șuntată).

Scanned with OKEN Scanner

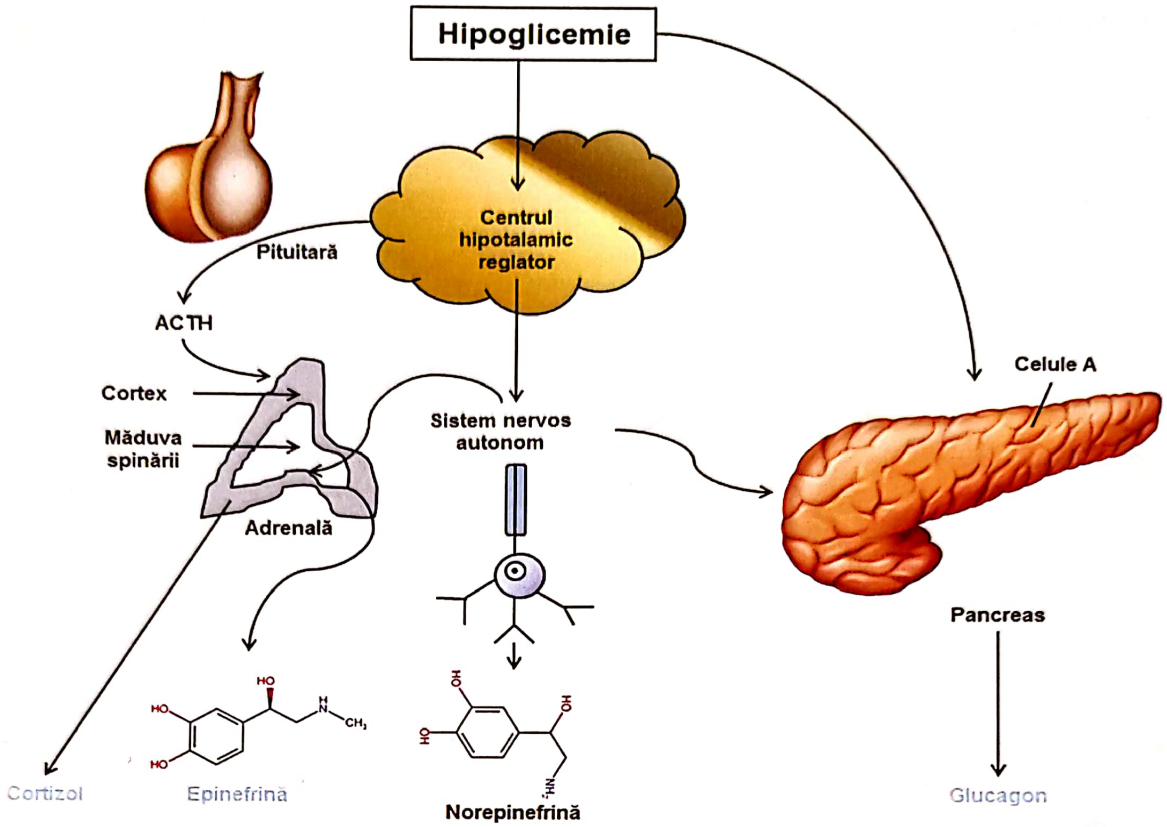


Fig 9.50. Sistemul nervos central (SNC) este dependent de aportul de glucoză si comandă intensificarea glicogenolizei si gluconeogenezei prin stimularea secretiei de catecolamine

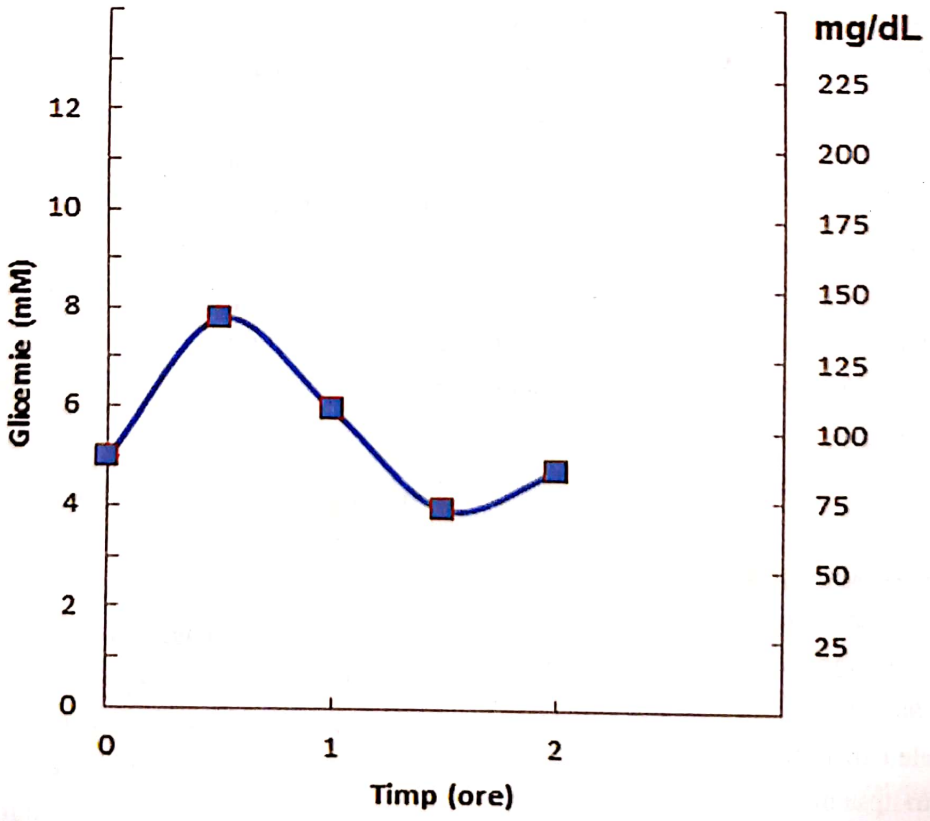


Fig 9.51. Variațiile concentrației glucozei serice

Scanned with OKEN Scanner

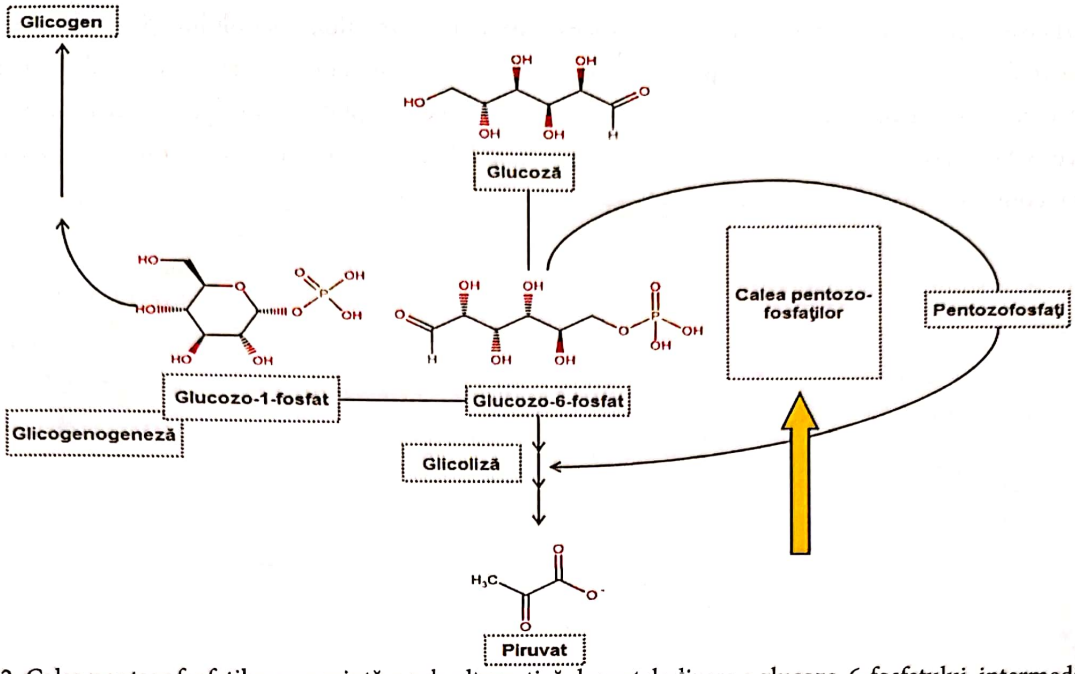


Fig 9.52. Calea pentozofosfaților reprezintă o cale alternativă de metabolizare a glucozo-6-fosfatului, intermediar al glicolizei, cale prin care se generează NADPH

Calea pentozofosfaților decurge în două etape: 1. etapa oxidativă este prima fază a șuntului pentozofosfaților, glucozo-6-fosfatul suferă o reacție de decarboxilare oxidativă la pentoze (ribulozo-5-fosfat și xilulozo-5-fosfat) și NADPH (Fig. 9.53). Este singura etapă în care se formează NADPH. Ribulozo-5-fosfatul este transformat în ribozo-5-fosfat, produs de la care începe biosinteza nucleotidelor purinice.

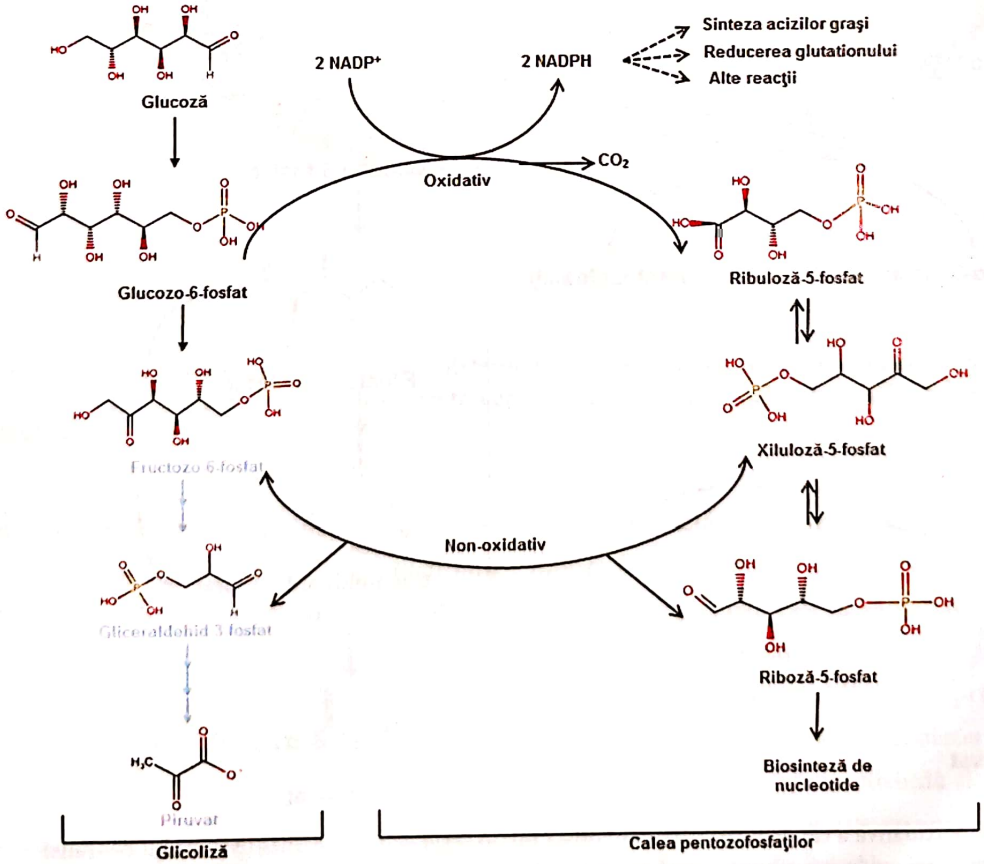


Fig 9.53. In etapa oxidativă glucozo-6-fosfatul suferă o reacție de decarboxilare oxidativă la pentoze și NADPH.

Scanned with OKEN Scanner

2. etapa neoxidativă constă într-o serie de rearanjamente și reacții de transfer care convertesc produsul fazei oxidative, ribozo-5-fosfatul și xilu- lozo-5-fosfatul la fructozo-6-fosfat și gliceraldehid-3-fosfat (Fig. 9.54). Cei doi compuși fiind intermediari ai glicolizei.

Bilanțul net al șuntului pentozofosfaților poate fi sumarizat:

$$6\ \text{glucozo-6-fosfat} + 12\ NADP^+ + 6\ H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12(NADPH + H^+) + 4(\text{fructozo-6-fosfat} + 2\text{-gliceraldehid-3-fosfat})$$

Calea oxidativă a pentozofosfaților este principala sursă de NADPH în celule care este necesar pentru:
1. Detoxifierea celulară reducerea glutationului oxidat, pentru citocrom P450 monooxigenaza care participă la metabolizarea compușilor aromatici, steroizilor, alcoolului și medicamentelor.
2. Reactii de reducere: sinteza acizilor grași, sinteza colesterolului, sinteza neurotransmițătorilor, sinteza nucleotidelor, sinteza superoxizilor.

Patobiochimie

Abilitatea eritrocitului de a-și menține integritatea membranară depinde de capacitatea acestuia de a genera ATP și NADH din glicoliză. NADPH-ul este generat în calea pentozo-fosfaților și este utilizat în vederea reducerii glutationului oxidat. Deficiența glucozo-6-fosfatdehidrogenazei, enzimă ce catalizează etapa oxidativă a șuntului pentozofosfaților, determină blocarea șuntului și în consecință sistemul de apărare al glutationului este compromis datorită scăderii sintezei de NADPH. O consecință a deficientei acestei enzime este acumularea de cor-

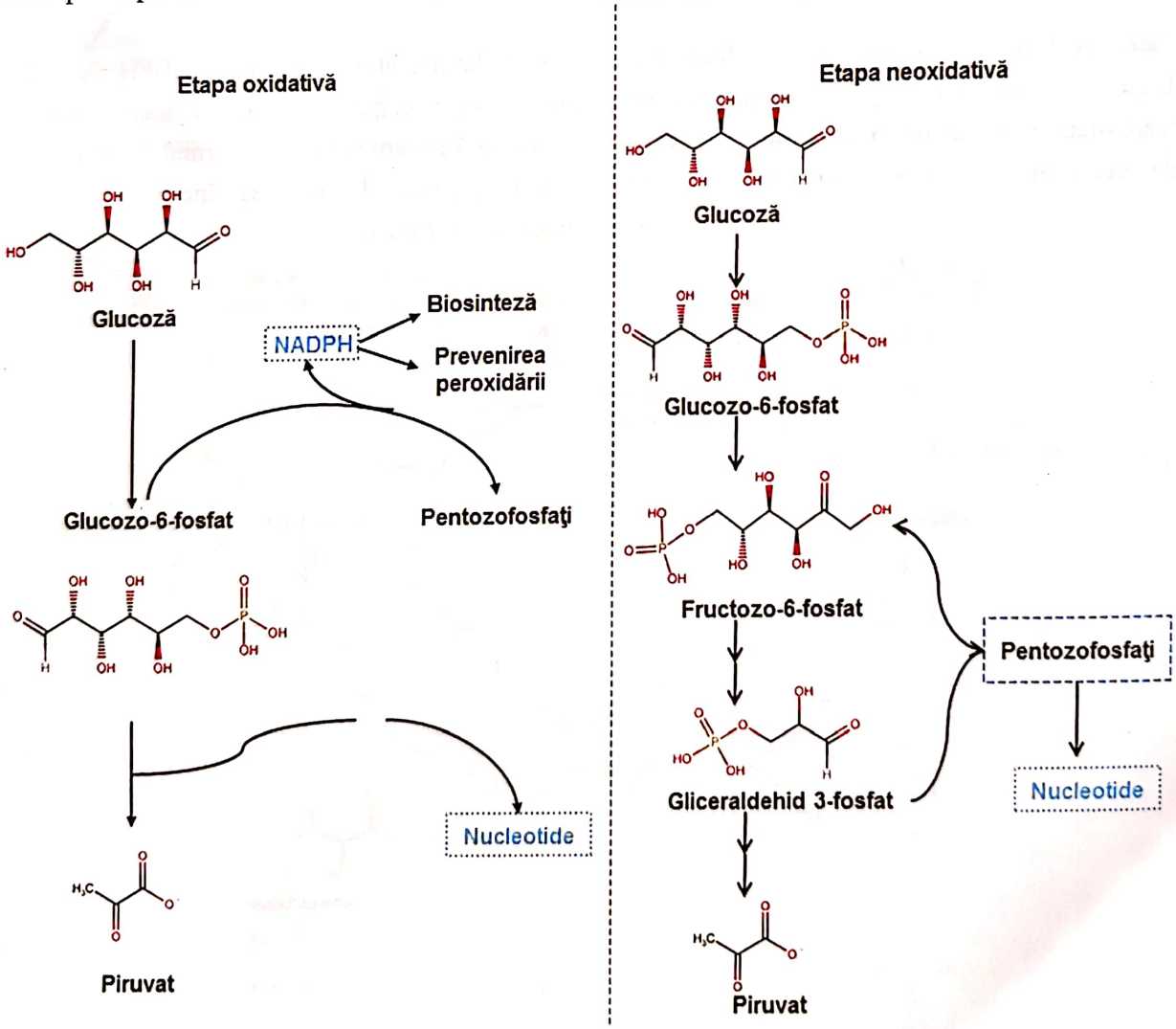


Fig 9.54. Etapa neoxidativă a căi pentozofosfaților constă într-o serie de rearanjamente și reacții de transfer care convertesc produsul fazei oxidative, ribozo-5-fosfatul și xilu-lozo-5-fosfatul la fructozo-6-fosfat și gliceraldehid-3-fosfat

Scanned with OKEN Scanner

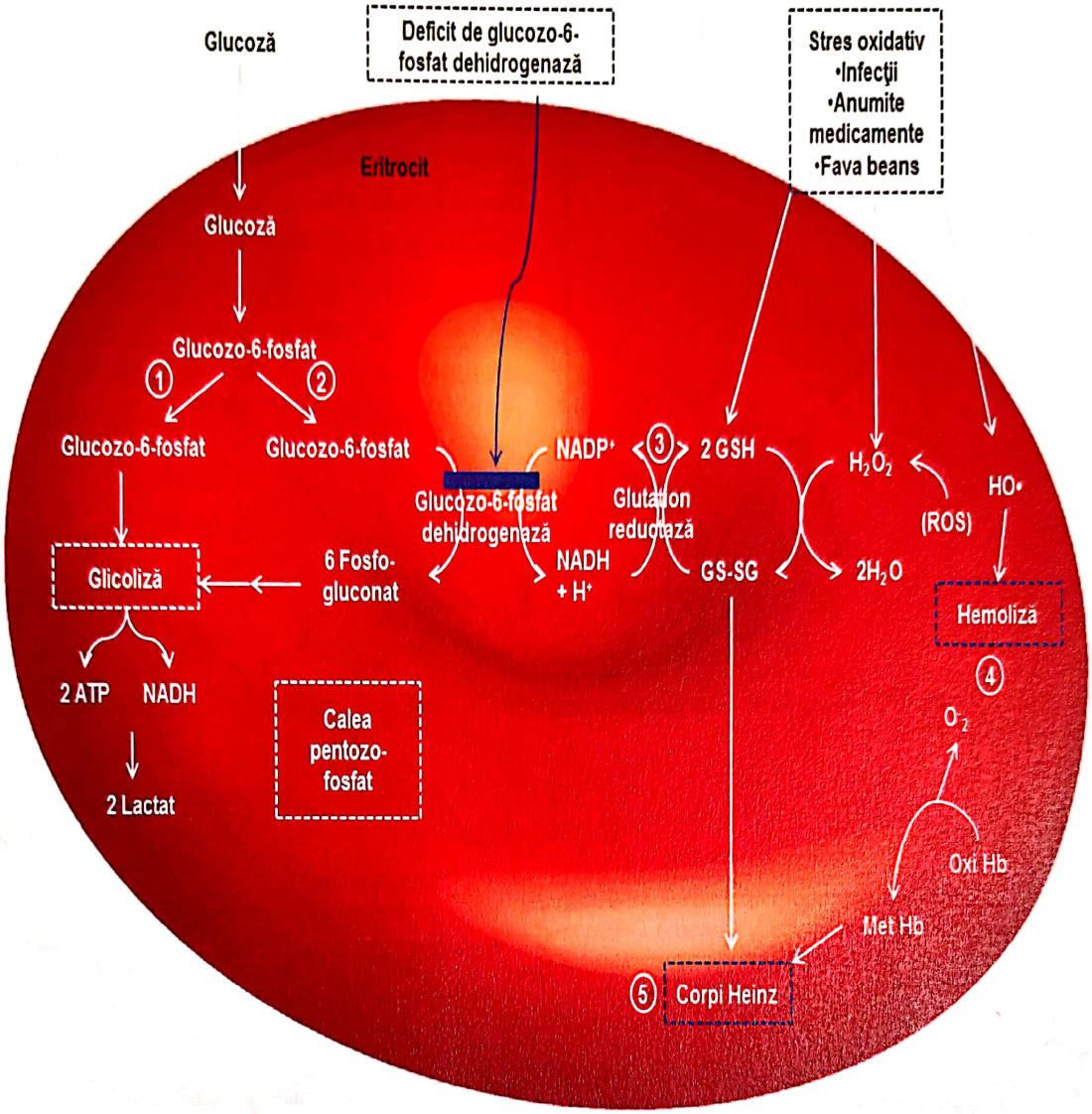


Fig 9.55. Deficienţa glucozo-6-fosfatdehidrogenazei determină blocarea şuntului şi acumularea de corpi Heinz (agregate de hemoglobină), şi o rezistenţă mecanică scăzută a eritocitului, soldată în final cu hemoliza acestuia

pi Heinz (agregate de hemoglobină), stres oxidativ şi o rezistenţă mecanică scăzută a eritocitului, soldată în final cu hemoliza acestuia (Fig. 9.55).

Căile de interconversie a glucidelor

Fructoza este, după glucoza, al 2-lea glucid ce se găseşte în dietă, care este ingerat în principal ca monozaharid sau ca făcând parte din sucroză (Fig. 9.56). Fructoza este metabolizată în principal în ficat prin fosforilare (sub acţiunea *fructokinazei*) la nivelul primei poziţii şi apoi prin conversia acestui compus sub acţiunea aldolazei B în intermediari ai glicolizei (gliceraldehidă şi dihi- droxiacetonfosfat). *Aldolaza B este enzima cheie în metabolismul fructozei şi este prezentă exclusiv în ficat.*

Scanned with OKEN Scanner

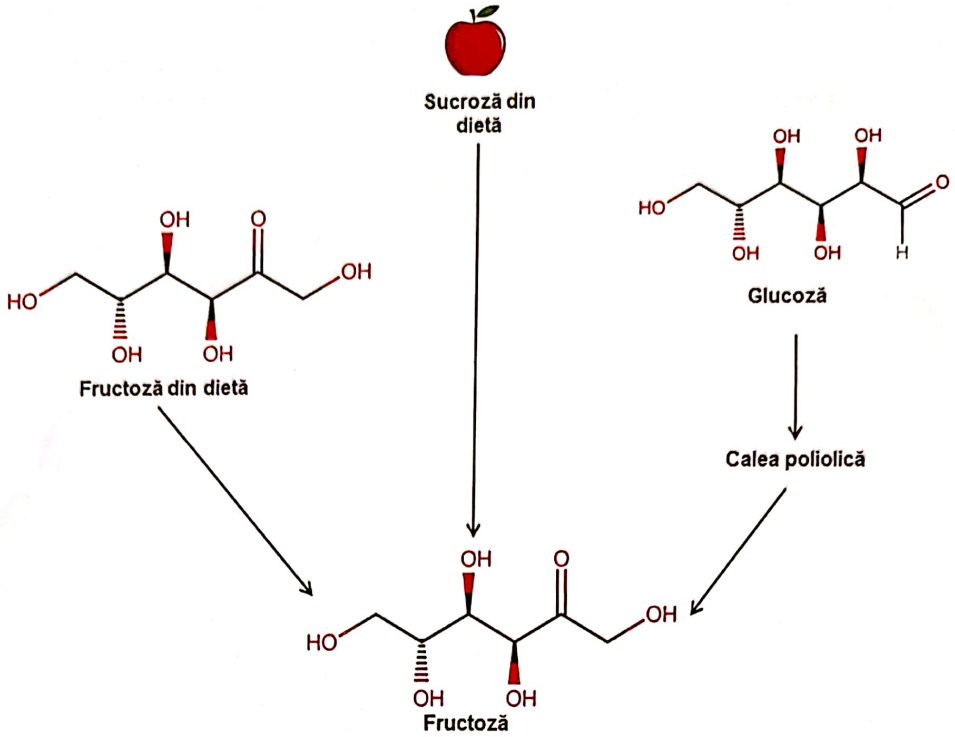


Fig 9.56. Fructoza este, după glucoza, al 2-lea glucid ce se găseşte în dietă, care este ingerat în principal ca monozaharid sau ca făcând parte din sucroză.

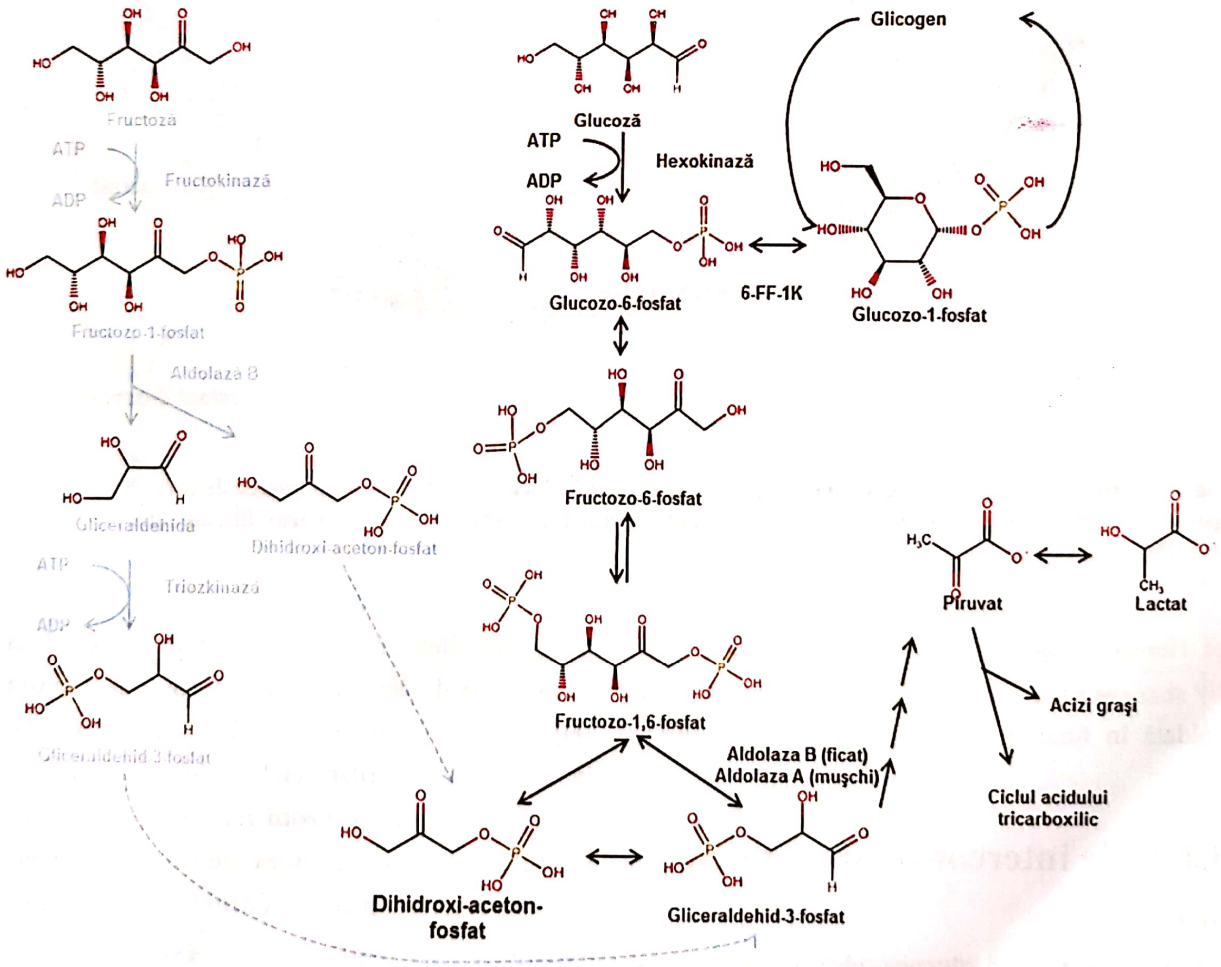


Fig 9.57. Aldolaza B este enzima cheie în metabolismul fructozei şi este prezentă exclusiv în ficat.

Scanned with OKEN Scanner

Oricare dintre produşii de reacţie pot parcurge calea glicolitică spre piruvat sau, în funcţie de necesităţile celulei, pot genera glucoză (Fig. 9.57). Fructoza nu se găseşte sub controlul 6-fosfofructokinazei (6-FF-1K), enzimă limitantă de viteză în glicoliză, ceea ce permite alimentarea necontrolată a neolipogenezei şi să aibă în consecinţă acţiune aterogenă. În lichidul seminal, fructoza se este angajtă în glicoliză şi în ciclul Krebs, ea fiind substratul energetic preferat pentru spermatozoid. Fructoza poate fi de asemenea sintetizată din glucoză pe calea poliolilor (Fig. 9.58).

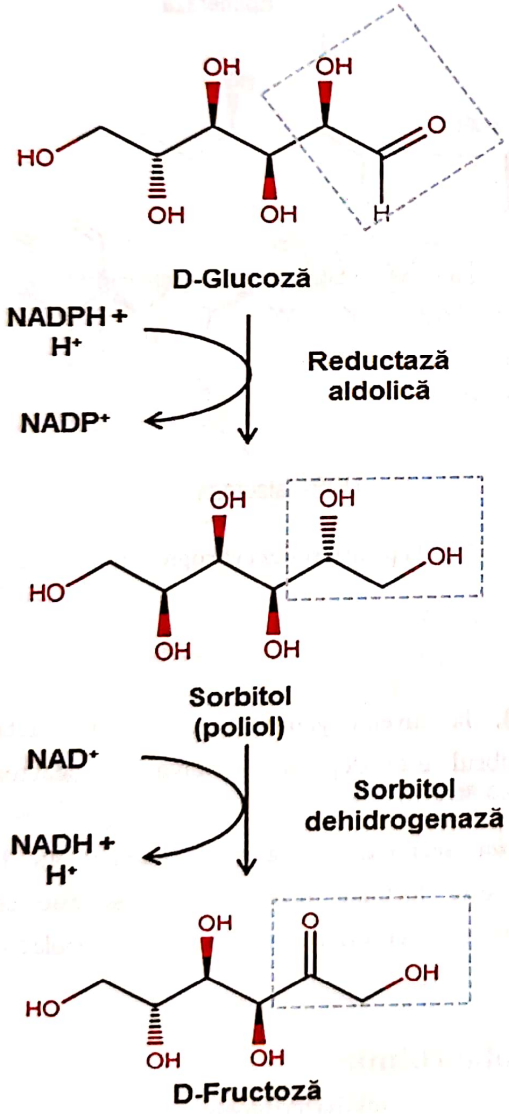


Fig 9.58. Fructoza poate fi de asemenea sintetizată din glucoză pe calea poliolilor

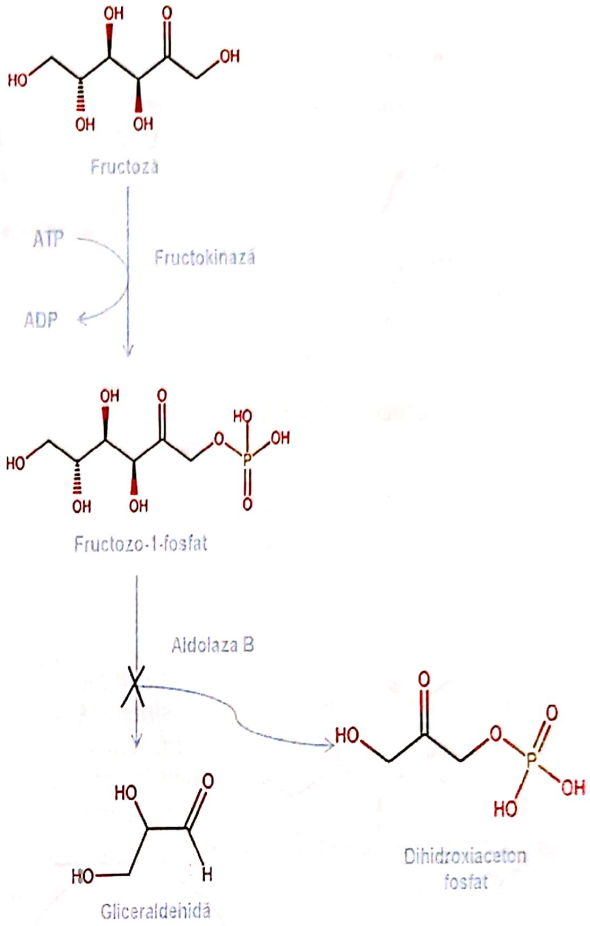


Fig. 9.59. Deficienţa ereditară a aldolazei B duce la intoleranţă la fructoză şi acumularea de fructozo-1-fosfat.

Patobiochimie

Deficienţa ereditară a aldolazei B duce la intoleranţă la fructoză. *Acumularea de fructozo-1-fosfat inhibă glucozo-6-fosfataza şi glicogenfosforilaza, având drept consecinţă sechestrarea glucozei în ficat ca ester fosforic, ceea ce explică crizele hipo-glicemice* (Fig. 9.59).

În rinichi şi muşchi, deficienţa hexokinazei, enzimă ce converteşte fructoza la fructozo-6-fosfat, duce la acumularea fructozei în sânge urmată de eliminarea acesteia (fructozurie esenţială). Sorbitolul, produs al căii poliol, este considerat "toxină tisulară" contribuind la patogeneza neuropatiei şi nefropatiei diabetice. La nivelul cristalinului, calea poliol (sinteză crescută de sorbitol incapabil sa traverseze membrana cristalinului) poate contribui la formarea cataractei.

Scanned with OKEN Scanner

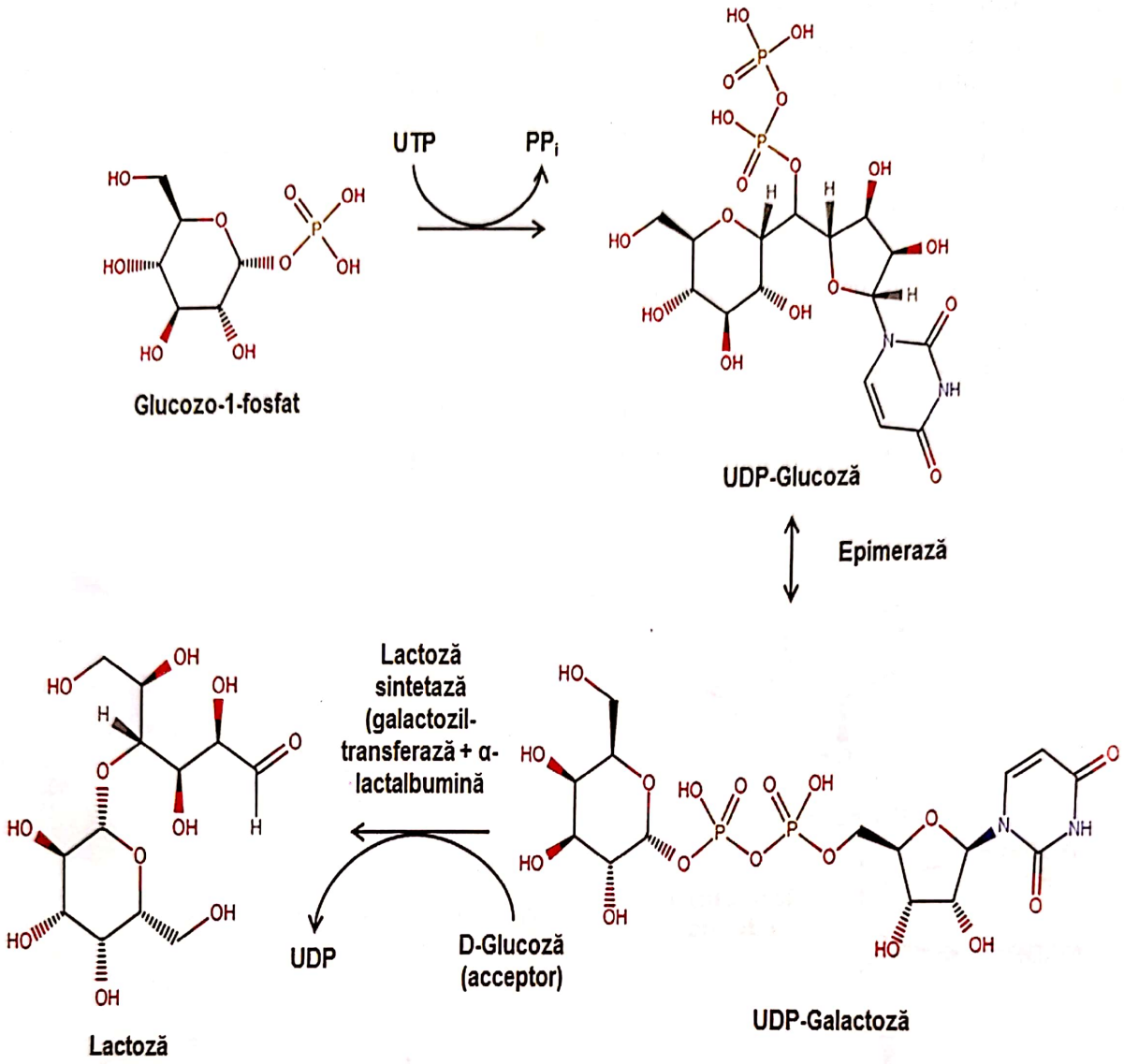


Fig. 9.60. Galactoza este transformată fie în UDP-glucoză, care este utilizată pentru sinteza glicoproteinelor, fie în glucozo-1-fosfat care este convertit în glucoză.

Metabolismul galactozei

Galactoza este convertită la glucoză în principal în ficat şi rinichi. Reprezintă o componentă majoră a proteoglicanilor, glicoproteinelor şi glicolipidelor. Galactoza este transformată fie în UDP-glucoză, care este utilizată pentru sinteza glicoproteinelor, fie în glucozo-1-fosfat care este convertit în glucoză (Fig. 9.60).

Prima etapă în metabolizarea galactozei este reprezentată de fosforilarea acesteia sub acţiunea *galactokinazei*. Echilibrul UDP-Gal – UDP-Gluc este dictat de nevoile organismului. Astfel în timpul formării structurilor glicolipidice (mielinei), la nivelul glandei mamare în lactaţie echilibrul este deplasat în favoarea galactozei.

Lactoza secretată de glanda mamară în lactaţie este formată din galactoză şi este controlată hormonal de către prolactină.

Patobiochimie

Deficienţa galactokinazei duce la acumularea galactozei în sânge (galactozemie) şi în urină (galactozurie) (Fig. 9.61), manifestată clinic prin apariţia cataractei. În apariţia cataractei un rol important îi revi-

Scanned with OKEN Scanner

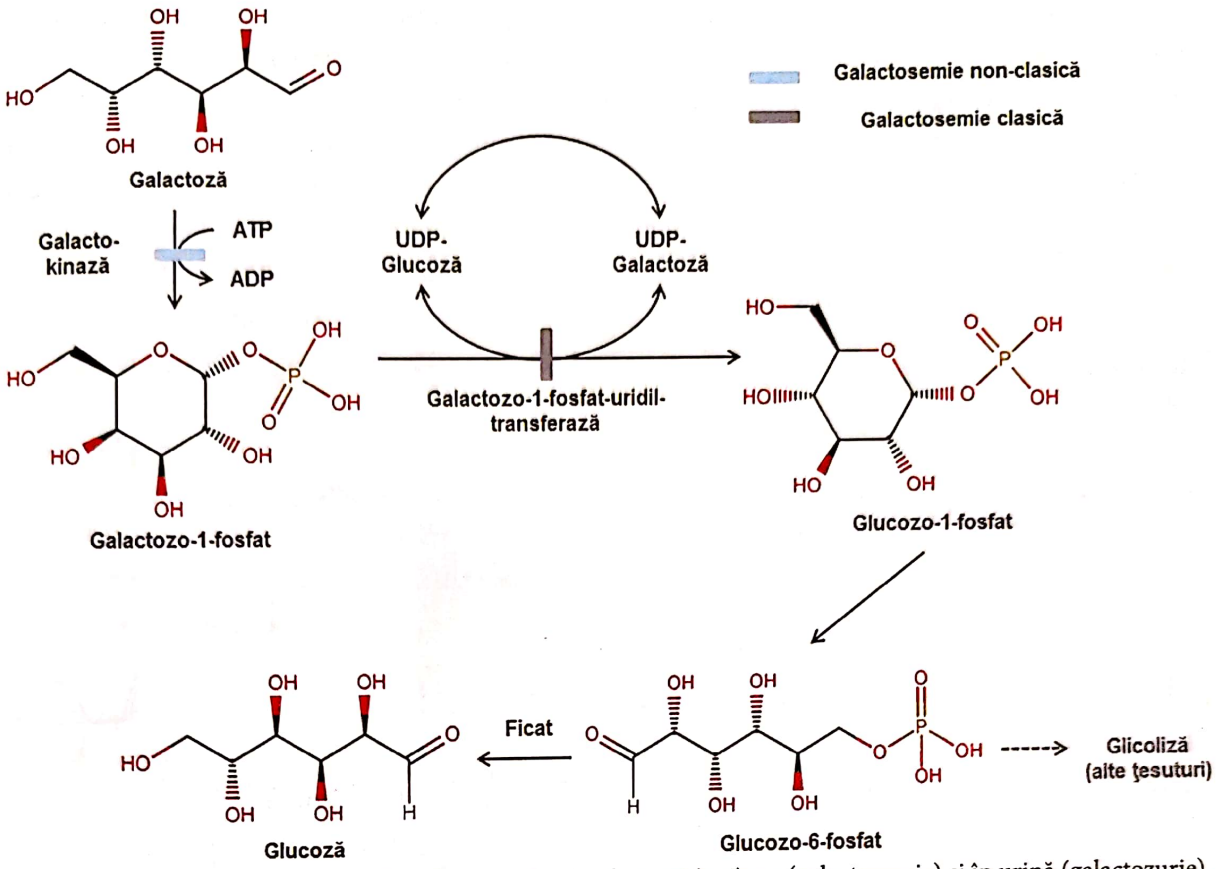


Fig. 9.61. Deficiența galactokinazei duce la acumularea galactozei în sânge (galactozemie) și în urină (galactozurie).

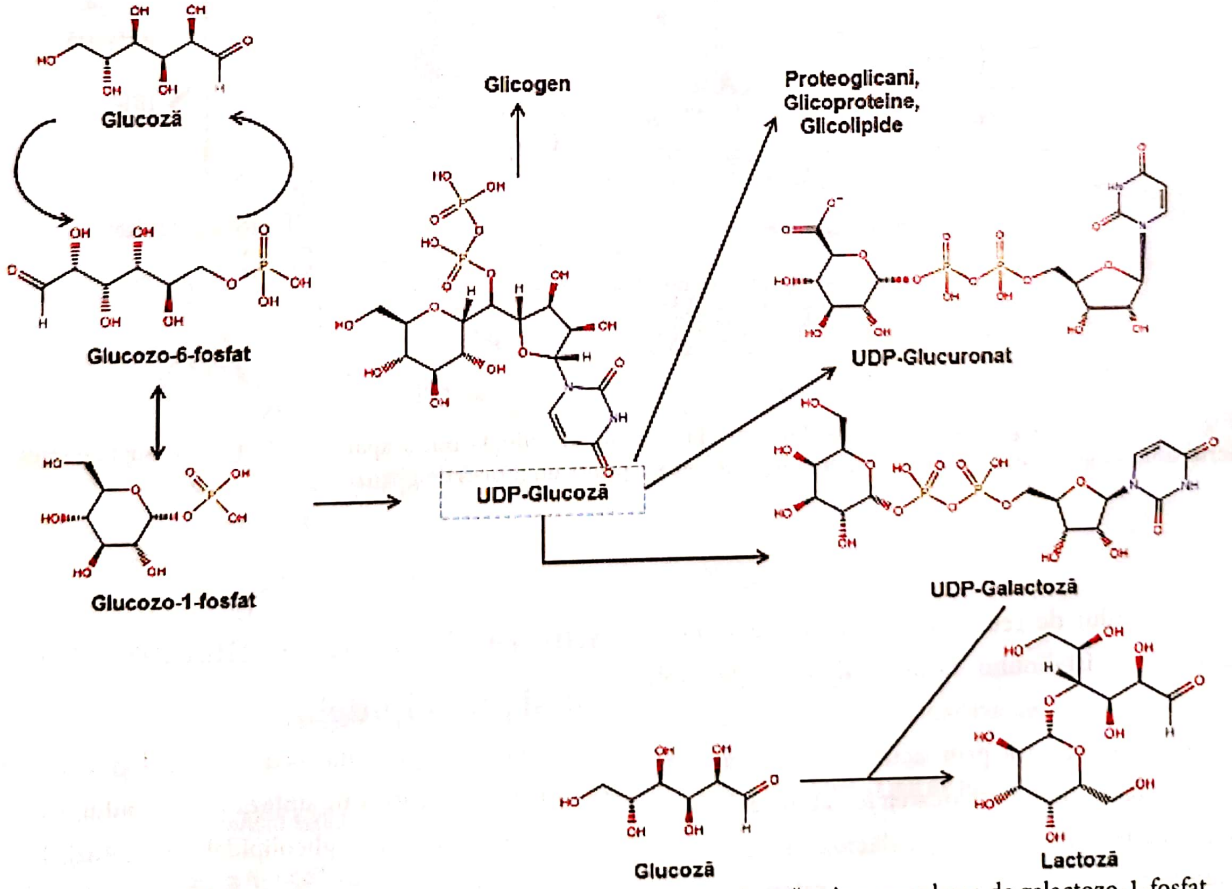


Fig. 9.62. Deficiența de galactozo-1-fosfat-uridiltransferaza se caracterizează prin acumularea de galactozo-1-fosfat în ficat, cu blocarea fosfatului sub forma acestui ester, galactozemie și galactozurie

Scanned with OKEN Scanner

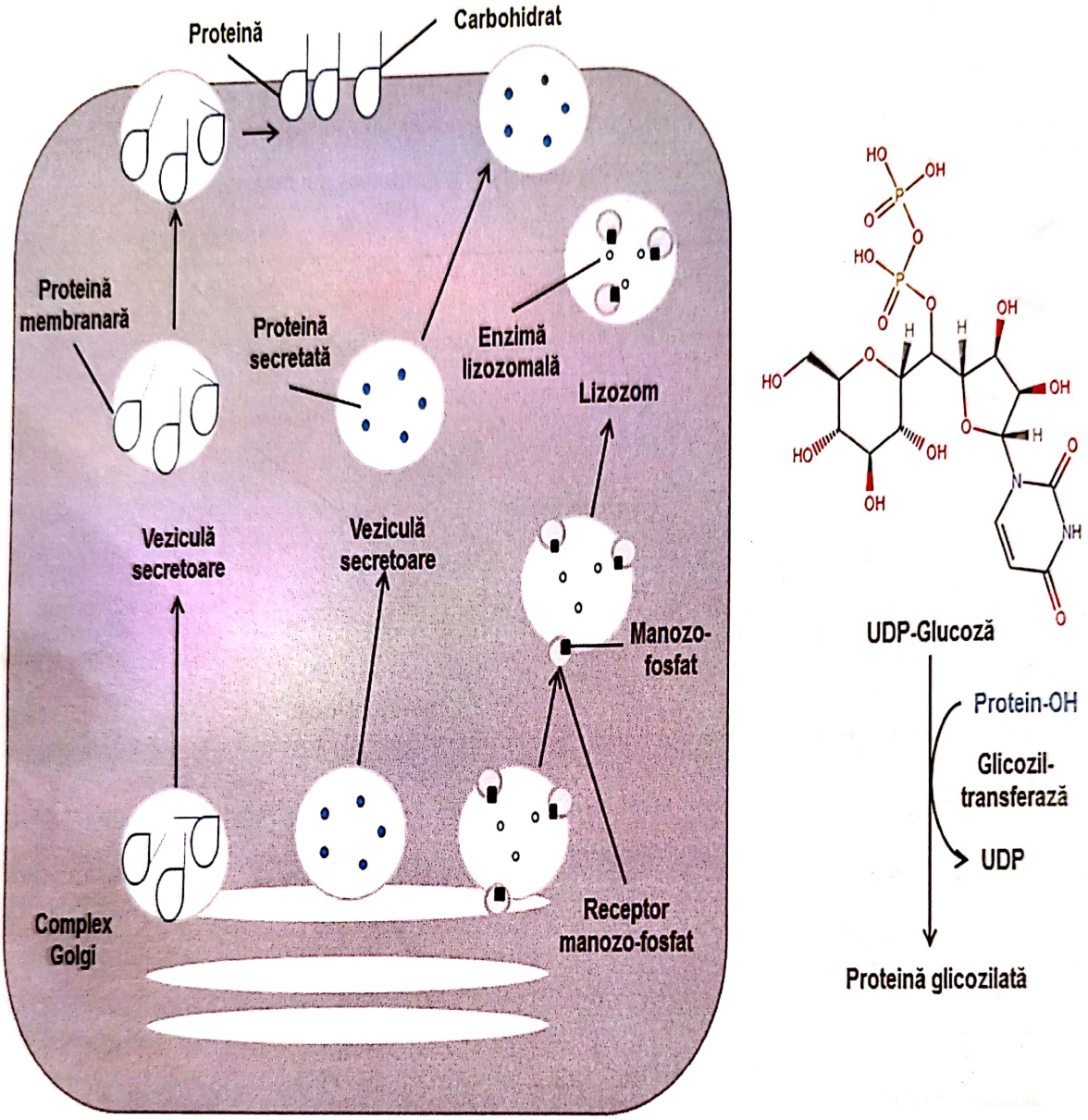


Fig. 9.63. Biosinteza glicoproteinelor are loc la nivelul reticulului endoplasmic şi aparatului Golgi şi presupune transferul unui oligozaharid precursor pe proteina acceptoare printr-un proces de glicozilare.

ne procesului de reducere a galactozei acumulată la nivelul cristalinului, la poliolul său (galactitol). Deficiența de galactozo-1-fosfat-uridiltransferaza se caracterizează prin acumularea de galactozo-1-fosfat în ficat, cu blocarea fosfatului sub forma acestui ester, galactozemie şi galactozurie (Fig. 9.61). Manifestările clinice sunt: cataractă, alterări hepatice, tulburări neuropsihice.

Sinteza glicozidelor, glicoproteinelor şi glicolipidelor

UDP-glucoza reprezintă forma activă a glucozei, si ocupă un loc central în sinteza glicogenului, lactozei, glicoproteinelor şi glicolipidelor (Fig. 9.62). Biosinteza glicoproteinelor are loc la nivelul reticulului endoplasmic şi aparatului Golgi (Fig. 9.63) şi pre-

Scanned with OKEN Scanner

supune transferul unui oligozaharid precursor pe proteina acceptoare catalizată de enzime denumite glicoziltransferaze printr-un proces de glicozilare. Energia necesară este furnizată de legătura fosfat macroergică dintre UDP și monozaharid (glucoză). Majoritatea proteinelor din sânge sunt glicoproteine. Glicoproteinele îndeplinesc multiple funcții precum: hormoni, anticorpi, enzime sau componente ale matrixului extracelular.

O funcție extrem de importantă este participarea glicoproteinelor în procesele de apărare ale organismului (imunoglobulinele, factorii sistemului complement), interferonul, pot fi receptori hormonali sau intervin în coagulare (fibrinogenul, trombina).

Alte glicoproteine servesc drept sisteme de transport: feritina, ceruloplasmina, haptoglobina. Mucina salivară care contribuie la formarea bolului alimentar, este un un alt exemplu de glicoproteină ramificată cu functie importantă in procesul de digestie (Fig. 9.64).

În organismul adult, 4-7% din hemoglobina circulantă este glicozilată (Hb Alc), proces care determină creșterea duratei de viață a hemoglobinei (timp de înjumătățire) în circulație. În diabet, datorită hiperglicemiei, are loc glicozilarea neenzimatică a hemoglobinei reflectată prin creșterea concentrației hemoglobinei glicozilate (produși Amadori) (Fig. 9.65).

Glicozilarea ne-enzimatică a proteinelor cu durată de viața lungă duce la formarea de produși numiți generic AGE (Advanced Glycation Products). Reacția care stă la baza formării acestor compuși este o reacție de tip Maillard și are loc între gruparea amino din proteine și gruparea carbonil din structura oligozaharidelor (Fig. 9.66).

Pentosidina este un biomarker of AGE si se formeaza dintr-o pentoza (riboza) care leaga 2 aminoacizi comuni din colagen, arginina si lizina (Fig. 9.67). După cum sugerează și numele, produșii AGE se formează mai frecvent cu

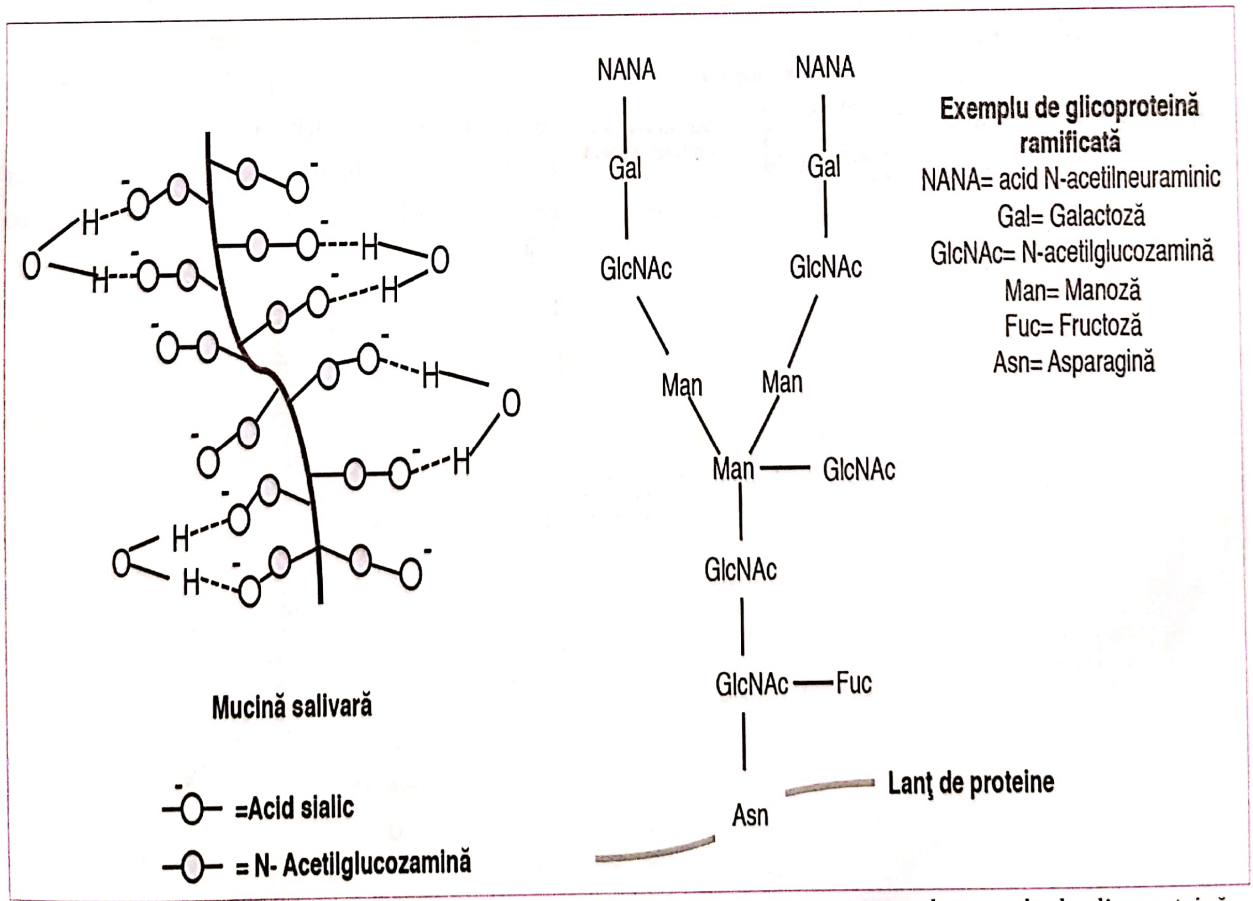


Fig. 9.64. Mucina salivară care contribuie la formarea bolului alimentar, este un un alt exemplu de glicoproteină ramificată cu functie importantă in procesul de digestie

Scanned with OKEN Scanner

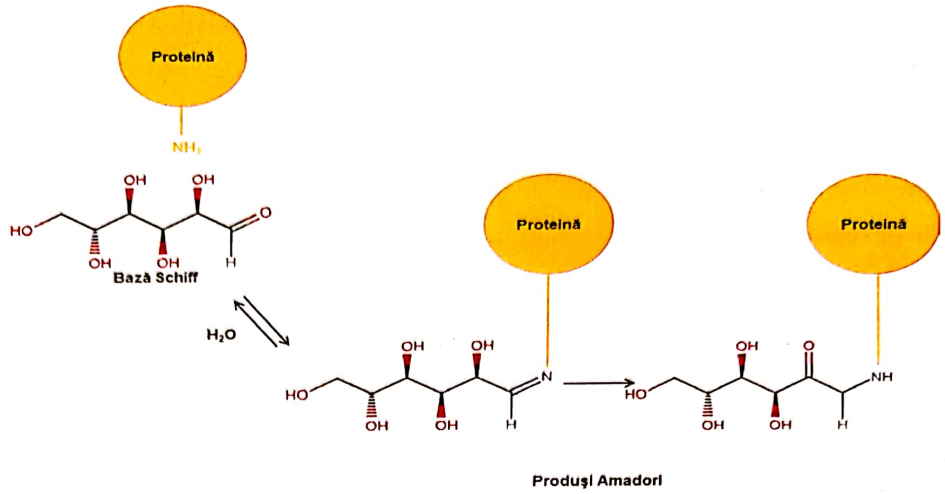


Fig. 9.65. În diabet, datorită hiperglicemiei, are loc glicozilarea neenzimatică a hemoglobinei reflectată prin creşterea concentraţiei hemoglobinei glicozilate (produşi Amadori).

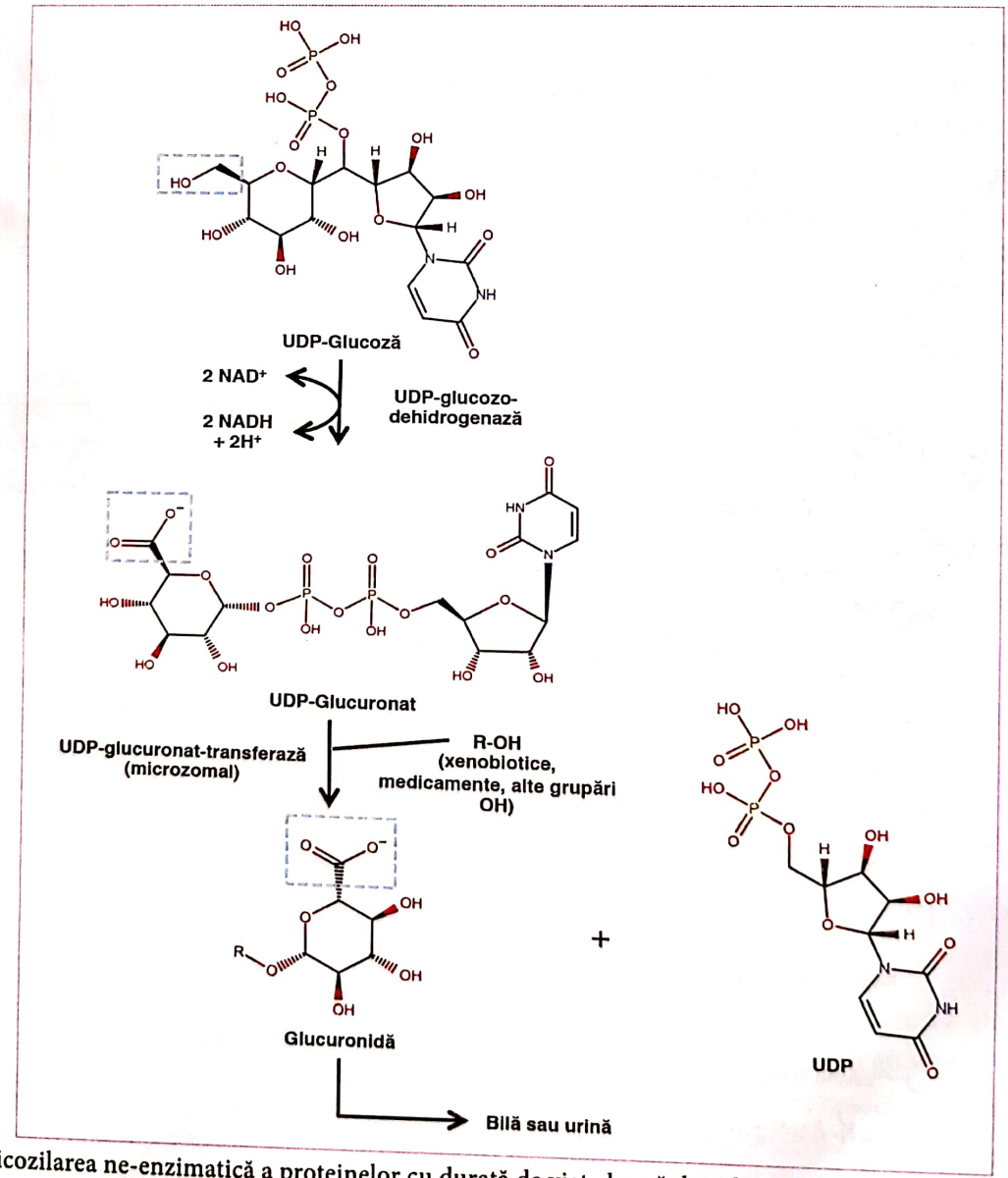


Fig. 9.66. Glicozilarea ne-enzimatică a proteinelor cu durată de viaţa lungă duce la formarea de produşi numiţi generic AGE (Advanced Glycation Products).

Scanned with OKEN Scanner

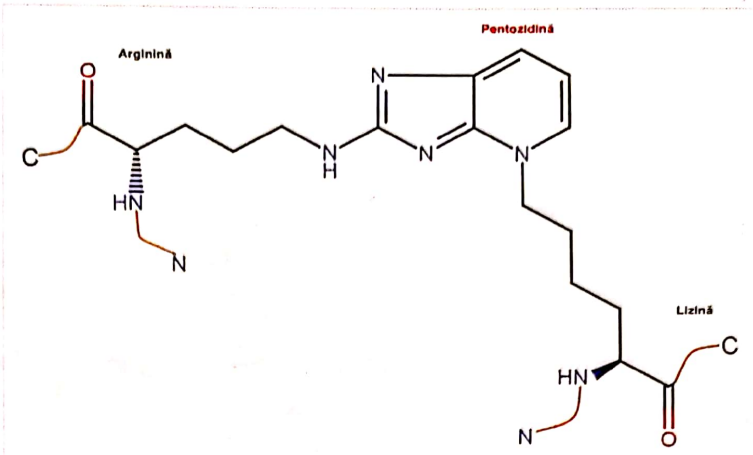


Fig. 9.67. Pentosidina este un biomarker of AGE si se formeaza dintr-o pentoza (riboza) care leaga 2 aminoacizi comuni din colagen, arginina si lizina.

înaintarea în vârsta, mai ales la bolnavii de diabet.

Aceşti produşi sunt captaţi de macrofage care au receptori pt ei (RAGE) contribuind astfel la patogeneza unor boli degenerative cum ar fi ateroscleroza (Fig. 9.68).

Calea acizilor uronici

O cale majoră de metabolizare a UDP-glucozei o constituie transformarea sa în UDP-glucuronat (calea acizilor uronici) (Fig. 9.69). UDP-glucuronatul transferă radicalul glucuronic pe diverşi compuşi în sinteza proteoglicanilor, glicozaminoglicanilor sau în formarea glucuronoconjugaţilor. Prin conjugarea lor cu acidul glucuronic, aceştia capătă proprietăţi ionice şi solubilitate în apă şi reprezentă o modalitate de a transforma compuşi cu polaritate scăzută în derivaţi solubili, uşor de transportat şi eliminat din organism.

Un compus endogen vehiculat în organism sub formă de glucuronoconjugat este bilirubina. Alţi compuşi excretaţi sub formă de glucuronide sunt hormoni ca estrogenul, progesteronul, triiodotironina. Unele medicamente sunt metabolizate şi eliminate pe această cale din or-

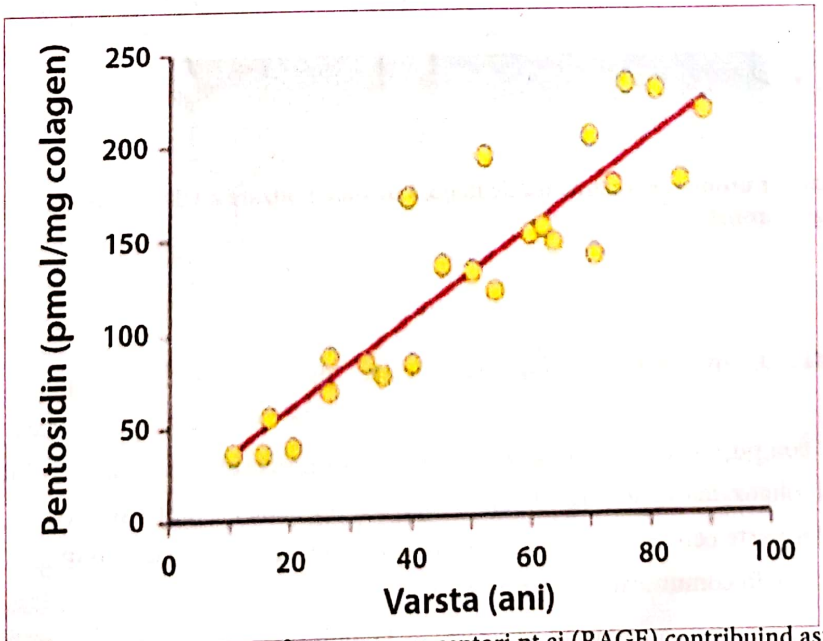


Fig. 9.68. Produşii AGE sunt captaţi de macrofage care au receptori pt ei (RAGE) contribuind astfel la patogeneza unor boli degenerative cum ar fi ateroscleroza.

Scanned with OKEN Scanner

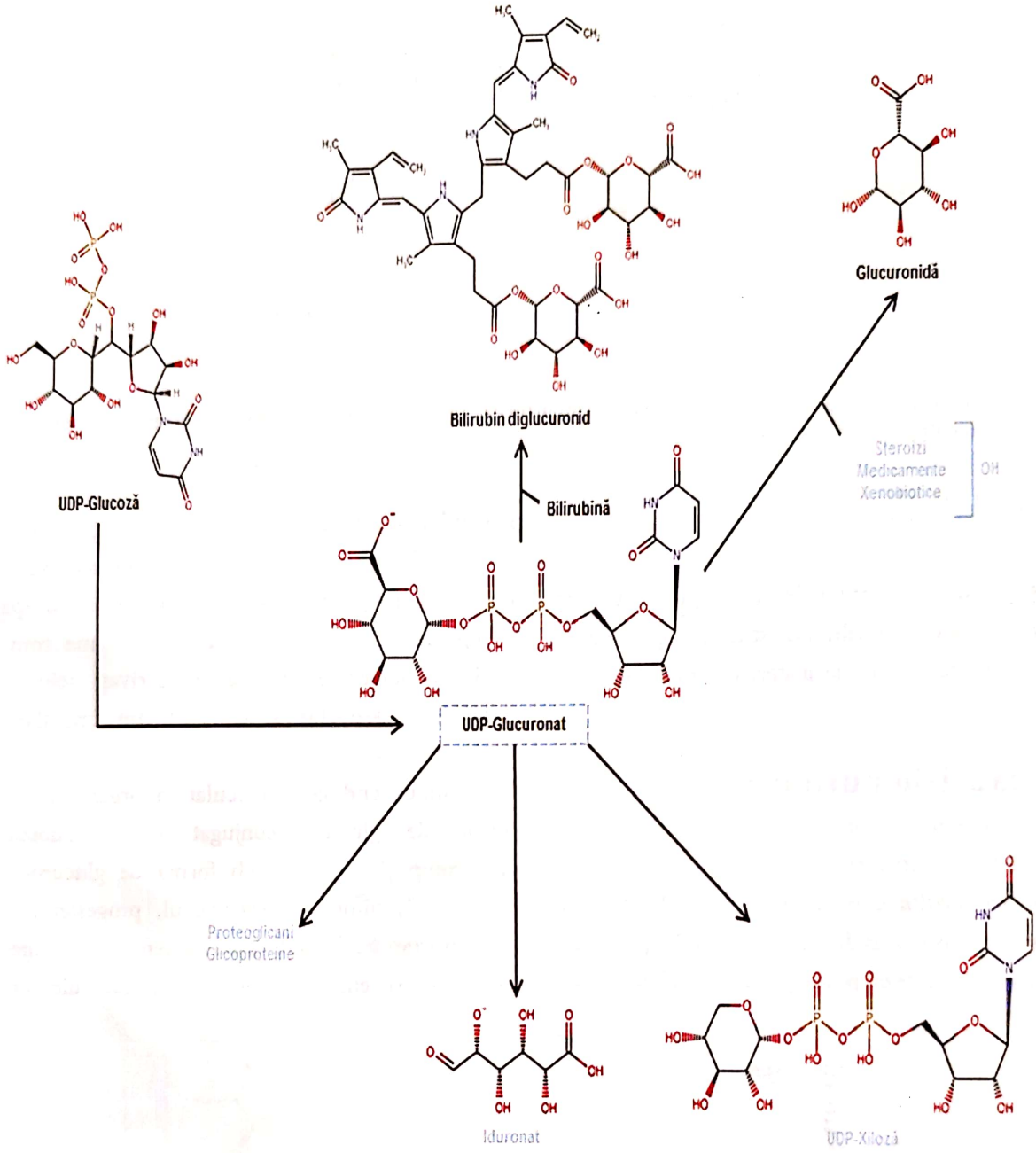


Fig. 9. 69. Calea acizilor uronici reprezintă o cale majoră de metabolizare a UDP-glucozei o constituie transformarea sa în UDP-glucuronat.

ganism: meprobamat, morfina etc (Fig. 9.70).

Glicolipidele sunt compuşi alcătuiţi din lipide (sfingozina) şi resturi oligozaharidice (Fig. 9.71). Din această categorie fac parte cerebrozidele şi gangliozidele, cu rol important în comunicarea intercelulară.

Sfingolipidele sunt amestecuri complexe alcătuite din: ceramide, sfingomieline, cerebrozide, sulfatide, gangliozide. Acestea sunt componente importante ale sistemului nervos central. Cerebrozidele sunt sintetizate de la ceramidă şi UDP-glucoză sau UDP-galactoză (Fig. 9.71).

Gangliozidele conţin oligozaharide produse din UDP-glucoză şi CMP-NANA (pre-

Scanned with OKEN Scanner

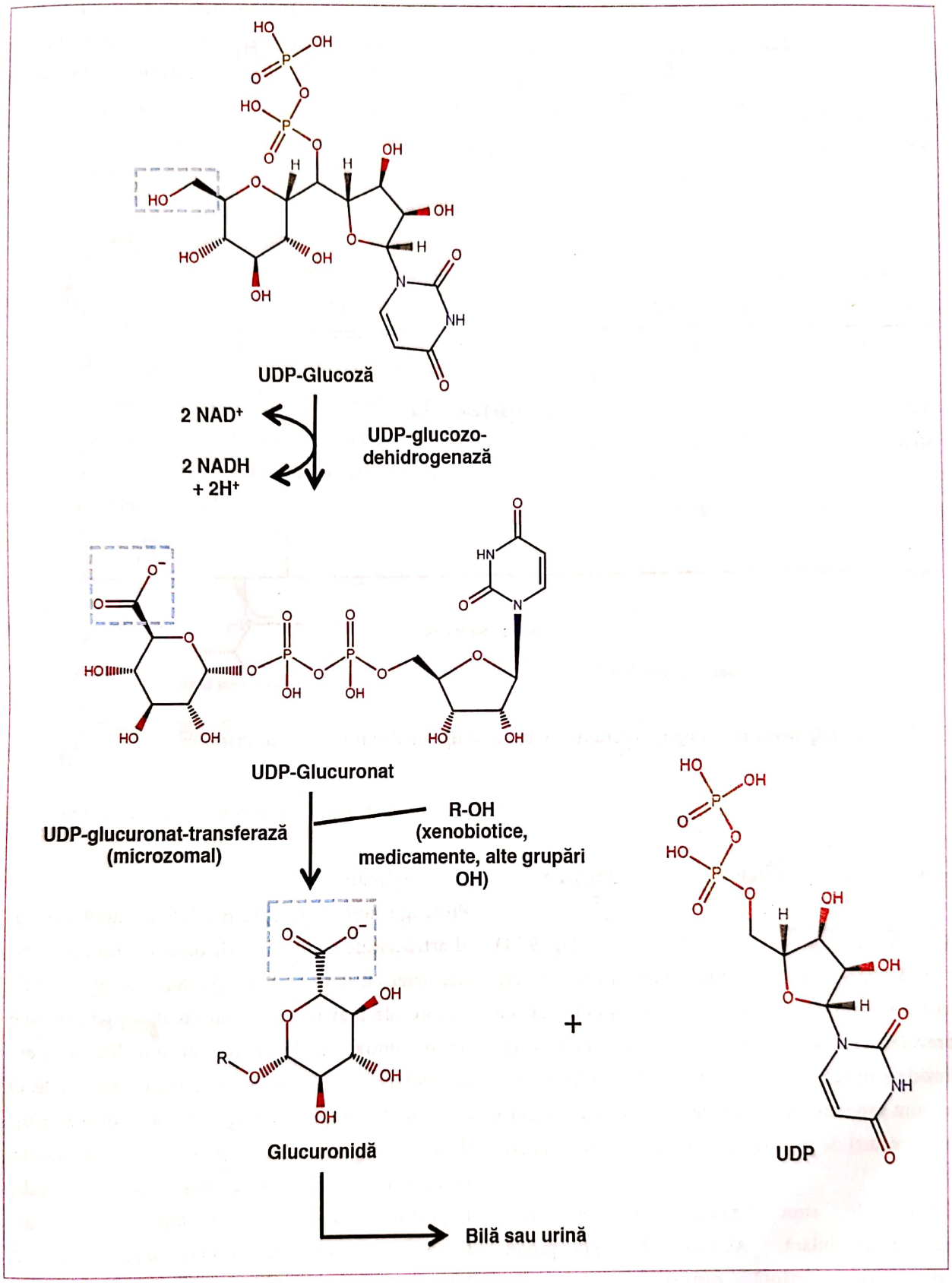


Fig. 9.70. Glucuronoconjugații (glucuronide) reprezintă o modalitate de a transporta și elimina hormoni si unele medicamente din organism.

Scanned with OKEN Scanner

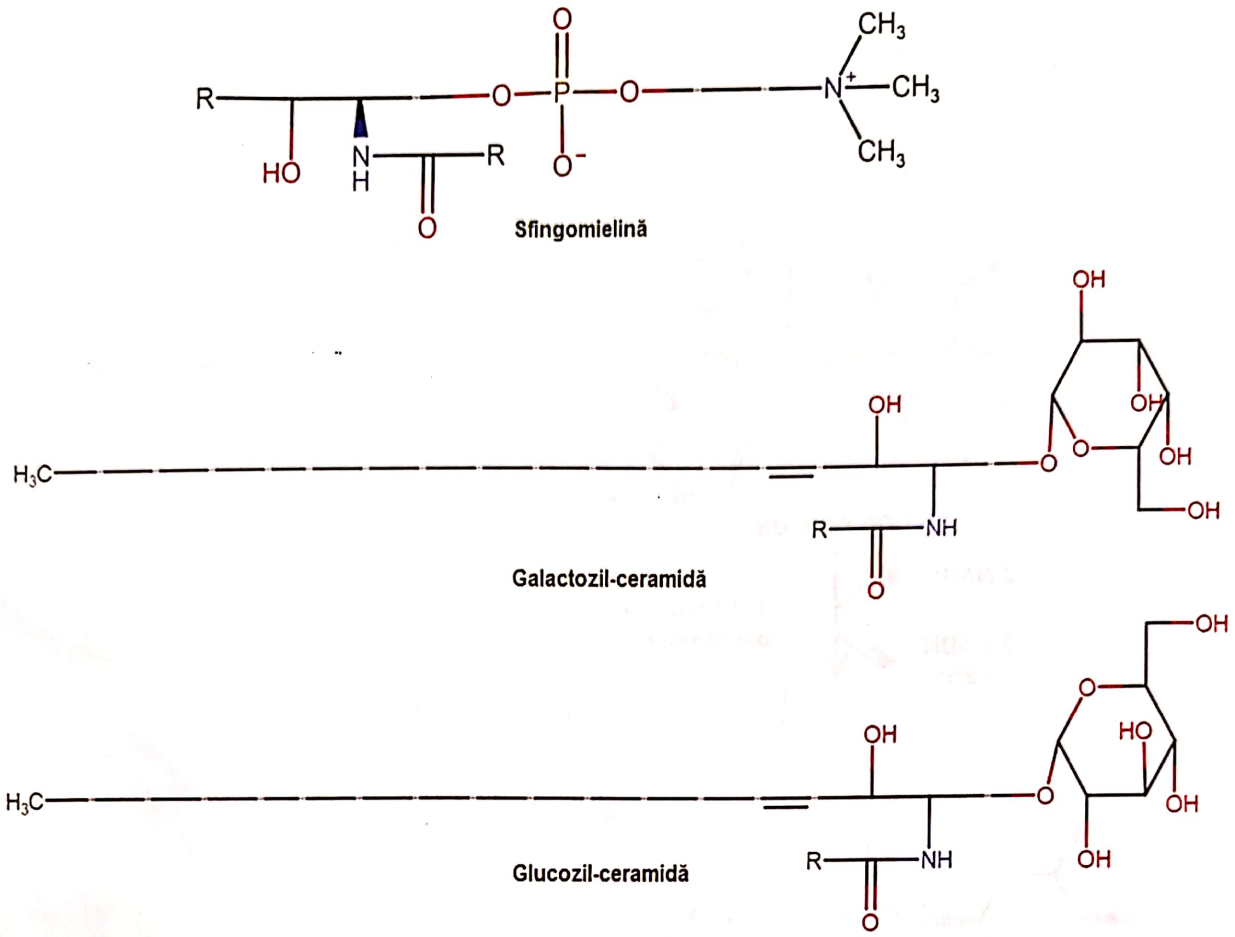


Fig. 9.71. Glicolipidele sunt compuşi alcătuiţi din lipide (sfingozina) şi resturi oligozaharidice.

cursor al acidului N-acetilneuraminic)

Sfingomielina sau ceramid fosforilcolina (Fig. 9.71) constă dintr-o moleculă de ceramidă unitate care are un rest de fosforilcolina in pozitia 1. Sfingomielina este prevalentă în membranele celulare din creier. Gangliozidele, lipide importante ale membranei neuronale, sunt generate din ceramide prin adiţia succesivă a unor resturi de glucoză, glactoză, galactozamină etc.

Glicolipidele sunt implicate în comunicarea intercelulară. Alături de glicoproteinele care prezintă resturi oligozaharidice identice şi care se găsesc în membrana celulară, glicolipidele servesc drept factori de recunoaştere celulară.

Proteoglicani

Proteoglicanii se gasesc la nivelul lichidului sinovial al articulatiilor, umoarea vitroasă a ochiului, peretele arterial, oase si cartilagii. Sunt componentele majore ale matrixului extracelular, ce conţin mai multe lanţuri de glicozaminoglicani. Matricea extracelulară nu serveşte doar ca liant între celule, ci are rolul de a împiedica migrarea celulelor şi pătrunderea unor molecule mari şi a unor particule, precum microorganismele, să pătrundă în celule. Importanţa medicală este legată de schimbările survenite la nivelul matrixului celular în urma acţiunii unor agenţi înfecţioşi. Celulele tumorale pot migra către alte ţesuturi doar prin alterarea matricei extracelulare.

Scanned with OKEN Scanner

Glicozaminoglicani

sunt alcătuiți din unități repetitive de dizaharide ce conțin un rest zaharidic N-acetilat si un acid uronic (glucuronic, iduronic) și sunt frecvent sulfatați.

Proteoglicanii au funcții specifice în organism:

- Acidul hialuronic – rol în migrarea celulară (embriogeneză, morfogeneză),
- Condroitin sulfatul – formarea măduvei, cartilagiilor și corneei

Dermatan sulfatul intră în structura țesutului conjunctiv dermic, tendoane, valve cardiace, perete vascular.

- Heparina este sintetizată de către mastocitele de la nivelul peretelui arterial din ficat, piele si plămâni. Are efect anticoagulant, activează lipopro- tein lipaza ce scindează chilomicronii si VLDL.
- Keratan sulfatul – transparența corneei (Fig. 9.72).

Patobiochimie

Deficitul enzimelor lizozomale implicate în degradarea normală a moleculelor matrixului determină apariția unor boli precum: mucopolizaharidoze, sfingolipidoze sau gangliozidoze.

Acumularea în țesuturi și excreția în urină a unor compuși de degradare incompletă a proteoglicanilor caracterizează un grup de boli genetice numite mucopolizaharidoze:

- Sindromul Hurler – intarziere mintală, deformări ale scheletului, opacitatea corneei, modificări somatice. Aceste manifestări se datorează acumulării în

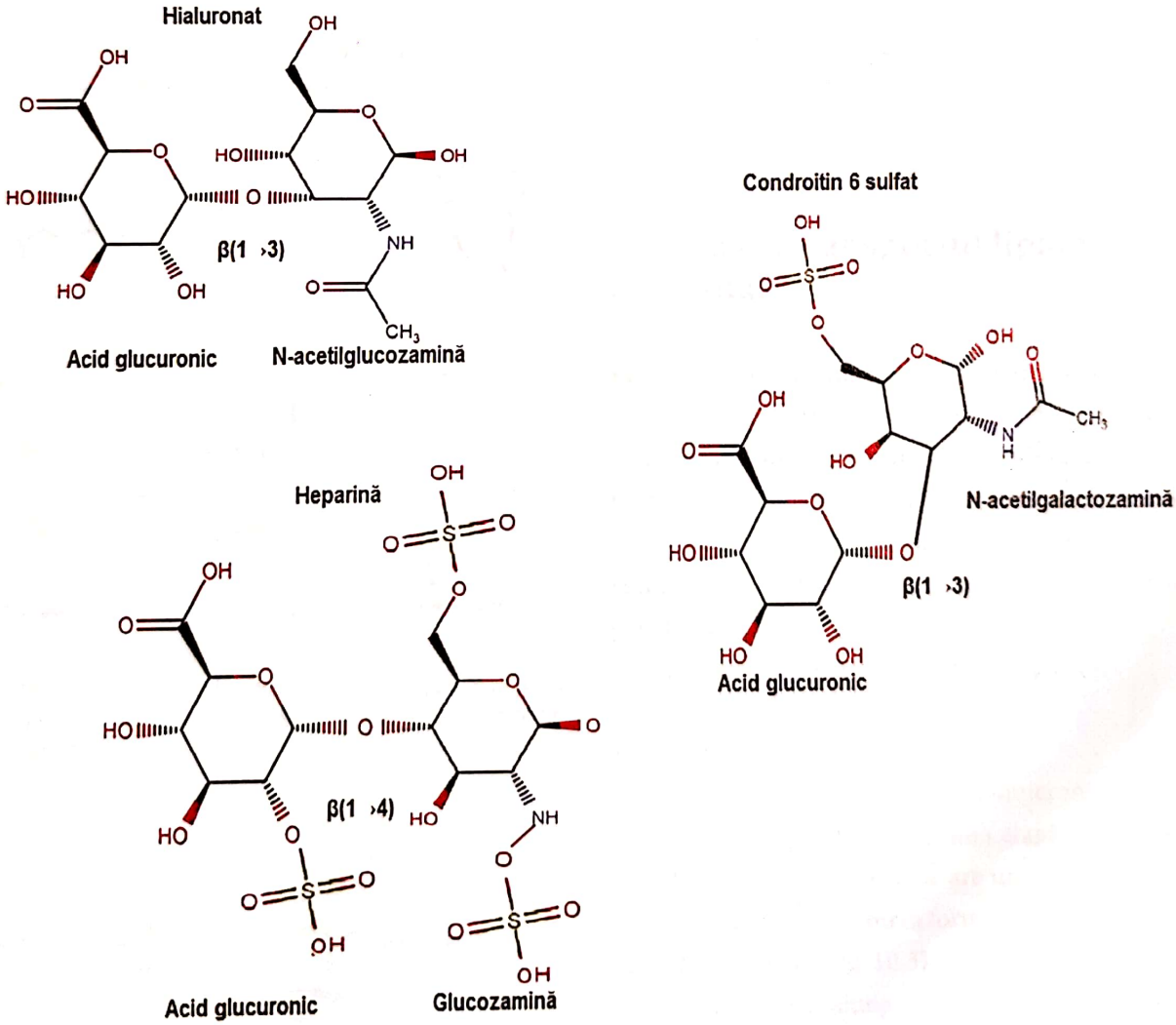


Fig. 9.72. Glicozaminoglicanii sunt alcătuiți din unități repetitive de dizaharide ce conțin un rest zaharidic N-acetilat si un acid uronic (glucuronic, iduronic) și sunt frecvent sulfatați.

Scanned with OKEN Scanner

țesuturi și urină a dermatansulfatului si keratansulfatului (deficit al enzimei α-iduronidaza)

- Sindromul Sanfilippo – întarziere mintală, modificări ale scheletului.
  datorat acumulării heparan sulfatului în urina și țesuturi.
- Sindromul Maroteaux – Lamy – deformări ale scheletului, opacitate corneană, datorată acumularii dermatansulfatului în urină (deficitul enzimatic *N-acetil-D-galactozamin sulfataze*).

Deficiențele enzimatice se caracterizează prin acumularea de sfingolipide în viscere, creier, sistemul reticuloendotelial, sistemul nervos central sau rinichi. Acestea sunt grupate într-o categorie de boli ereditare numite sfingolipidoze. Cea mai cunoscută boală este boala Tay-Sachs și este caracteristică evreilor din Europa de Est (Ashkenazi Jews). Boala este caracterizată de acumularea de gangliozide (în special ceramide) în creier, piele, ficat și splină. Aceste lipide complexe nu pot fi degradate și duc la tulburari psihomotorii. Alte sfingolipidoze sunt: boala Krabbe (*deficit de β-galactozidază*), boala Gaucher (*deficit de β-glucozidază*), boala Niemann Pieck (*deficit de sfingomielinază*).

Scanned with OKEN Scanner

10. METABOLISMUL LIPIDIC

Lipidele sunt molecule organice ce îndeplinesc diferite funcţii biologice în organism, fiind caracterizaţi de o proprietate comună: solubilitate relativă în apă.

Dintre aceste funcţii, patru prezintă o importanţă majoră (Fig. 10.1):

1. sunt componente majore ale membranelor celulare şi intracelulare (glicerofosfolipidele, sfingolipidele); eicosanoizii (alcătuiţi din acizi graşi polinesaturaţi precum acidul arahidonic) participă la reglarea proceselor celulare şi în procesul inflamator.
2. rezervor de energie sub forma de triacilgliceroli;
3. vitaminele liposolubile (A,D,E şi K) şi hormonii steroizi sunt lipide;
4. colesterolul asigură compoziţia bistratului lipidic membranar, serveşte drept precursor în sinteza sărurilor biliare, compuşi cu proprietăţi tensioactive ce favorizează digestia şi absorbţia lipidelor.

Majoritatea lipidelor ce se găsesc în organism pot fi încadrate în următoarele categorii:

- acizi graşi şi triacilgliceroli;
- glicerofosfolipide şi sfingolipide;
- eicosanoizi (Fig. 10.2);
- colesterol, săruri biliare şi hormoni steroizi;
- vitamine liposolubile.

Triacilglicerolii reprezintă componenta lipidică majoră din dietă, ei fiind sintetizaţi şi la nivelul ficatului din glucoza oferită în cantitate mare imediat după ingestia de alimente.

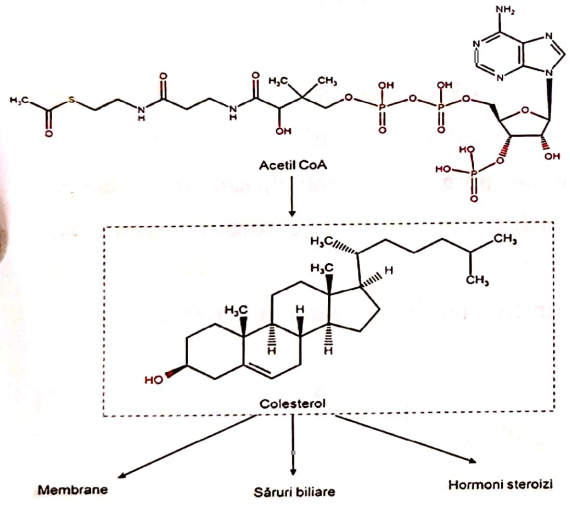


Fig. 10.1. Interrelaţia dintre metabolismul glucozei şi metabolismul acizilor graşi (modificat după Marks Biochemistry, 2005)

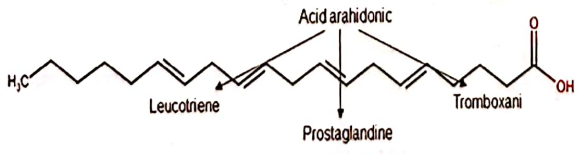


Fig. 10.2. Principalele clase de eicosanoizi

Digestia şi transportul lipidelor alimentare

Principalele lipide din dietă sunt reprezentate de triacilgliceroli, colesterol şi fosfolipide. Digestia şi absorbţia lipidelor sunt procese complexe ce necesită hidroliza lor sub acţiunea lipazelor, solubilizarea şi menţinerea lor în mediul apos din organism, proces realizat cu ajutorul bilei, sucului intestinal şi sucului pancreatic.

Acest proces prezintă trei etape principale:

1. emulsionarea grăsimilor;
2. hidroliza lipidelor;
3. formarea de micelii şi chilomicroni.

Emulsionarea lipidelor este prima etapă în digestia şi absorbţia lipidelor, etapă care are un rol important în încorporarea acestora într-o formă uşor absorbilă prin peretele intestinal (Fig. 10.3).

Lipidele din dietă ajung în intestinul subţire, unde sunt emulsifiate (suspendate în particule mici în me-

Scanned with OKEN Scanner

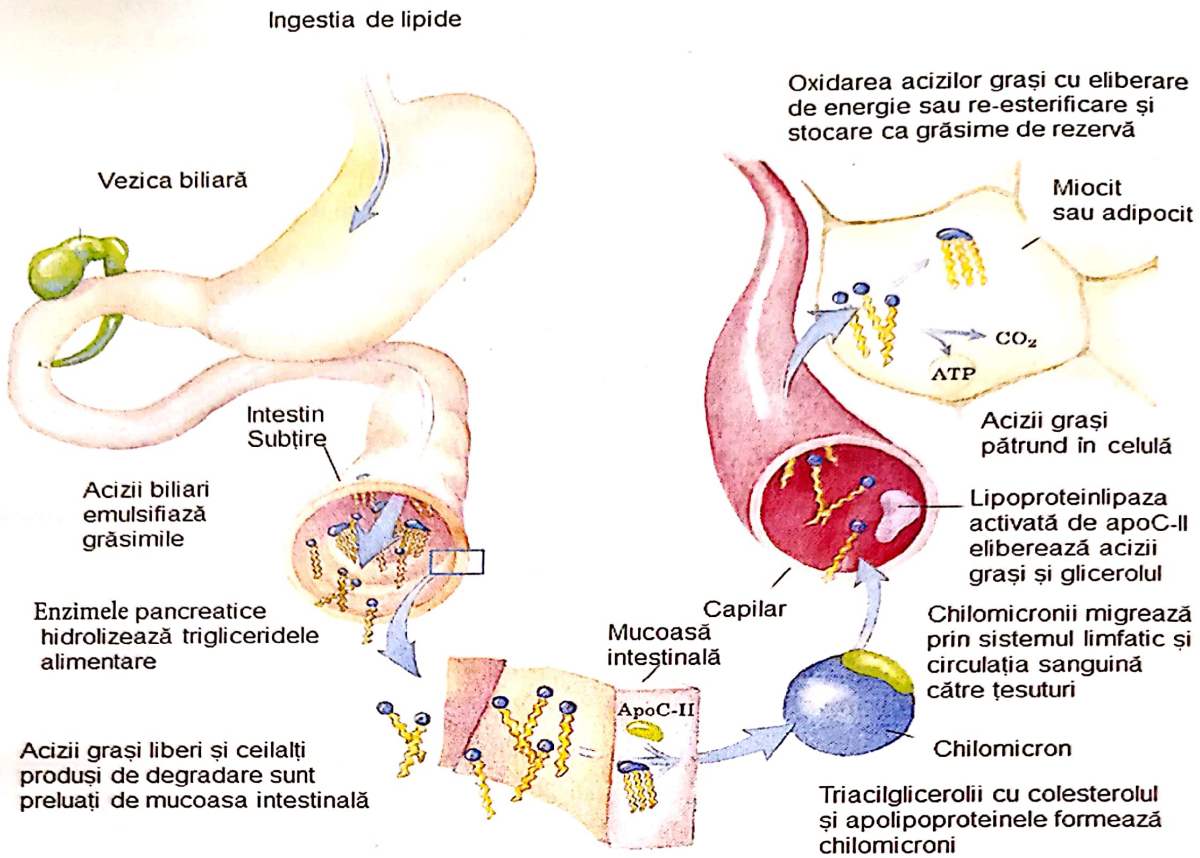


Fig. 10.3. Emulsifionarea lipidelor

diul apos al organismului) de către sărurile biliare. Sărurile biliare sunt compuși amfipatici, ce conțin atât componente hidrofile cât și componente hidrofobe, sunt sintetizate în ficat și secretate prin intermediul veziculei biliare în lumenul intestinal. Contracția veziculei biliare precum și secreția enzimelor pancreatice sunt stimulate de către hormonul intestinal colecistokinină.

Principalele roluri biochimice ale acizilor biliari sunt:

- emulsificarea grăsimilor datorită caracterului de detergent;
- facilitează absorbția vitaminelor hidrofobe (în special vitamina K);
- facilitează actiunea lipazei pancreatice;
- au acțiune coleretică –stimulează secreția biliară;
- stimulează motilitatea intestinală;

Acizii grași obținuți din glucoză pot fi folosiți pentru a obține energie prin oxidare, pot fi stocați ca rezerve de energie sub formă de *acilgliceroli* sau pot fi convertiți în produși de structură ai celulelor (Fig. 10.4).

- mențin colesterolul în soluție sub formă de micelii.

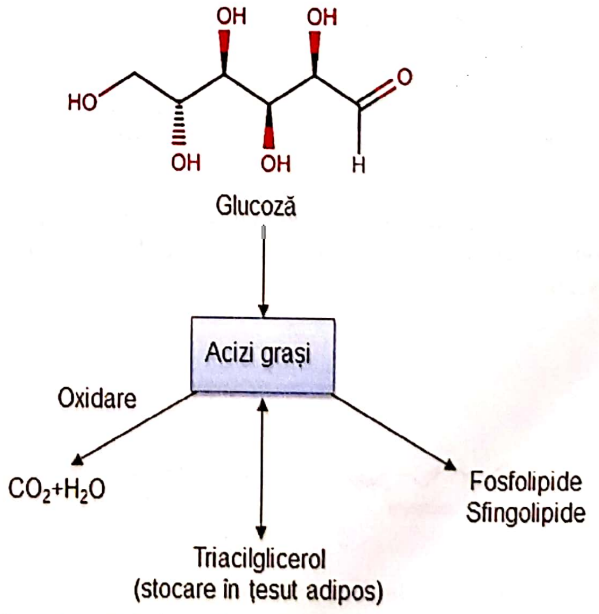


Fig. 10.4. Rolul acizilor grași

Scanned with OKEN Scanner

Sărurile biliare sunt derivaţi ai colesterolului şi păstrează structura de bază a acestuia:

- caracterul de detergent al acizilor biliari este dato rat structurii duale, hidrofobă-hidrofilă al sărurilor biliare;
- caracterul hidrofil este conferit de grupările hidroxil (sau sulfat) si de gruparea carboxil;
- caracterul hidrofob este conferit de nucleul sterolic (Fig. 10.5)

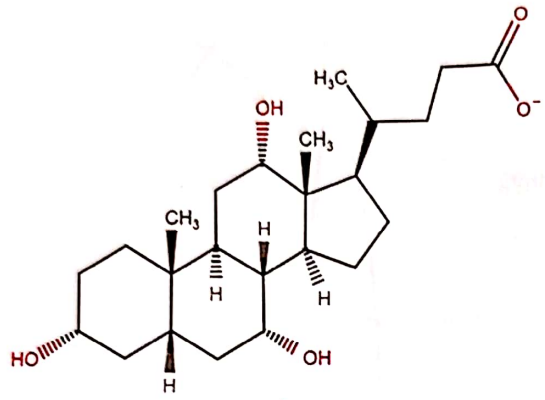


Fig. 10.5. Structură colat

Sărurile biliare au capacitatea de a forma agregate micelare în care partea hidrofobă este orientată către interior iar partea hidrofilă la exterior. În centrul acestor micelii se afla lipidele (trigliceridele)(vezi Fig. 10.6). Grăsimile emulsifiate sunt astfel supuse acţiunii lipazelor pancreatice.

Digestia triacilglicerolilor

Triacilglicerolii, componenta majoritară a lipidelor alimentare sunt esteri ai glicerolului cu acizii graşi (Fig. 10.7). Grăsimile animale şi uleiurile vegetale

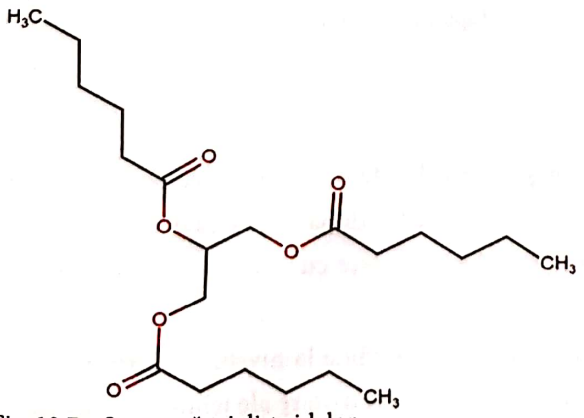


Fig. 10.7. Structură trigliceridelor

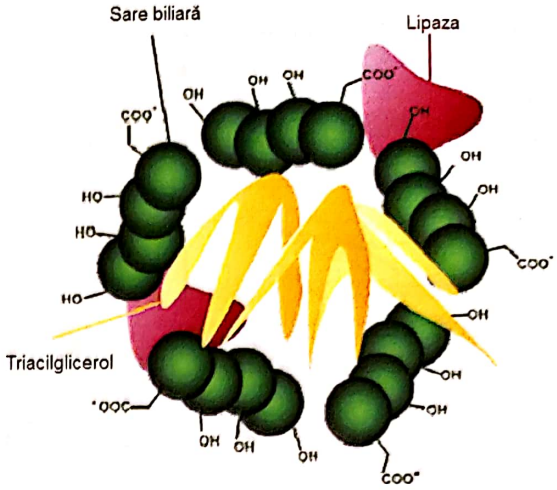


Fig. 10.6. Structura agregatelor micelare (după Petrides Biochemie, 2014)

sunt triacilgliceroli ce diferă prin conţinutul lor în acizi graşi nesaturaţi.

Calea de digestie a triacilglicerolilor este reprezentată de hidroliza acestora în lumenul intestinal la acizii graşi componenţi şi 2-monoacilglicerol sub acţiunea lipazelor (Fig. 10.8). Calea de digestie depinde de mărimea lanţului acizilor graşi componenţi. Astfel, lipazele salivare şi gastrice pot hidroliza preferenţial acizii graşi cu lanţ scurt şi mediu din compoziţia triacilglicerolilor alimentari.

Aceste lipaze au activitate intensă în special la copii care consumă o cantitate mare de lapte de vacă, bogat în trigliceride cu conţinut ridicat de acizi graşi cu lanţ scurt şi mediu. Lipaza pancreatică este secretată împreună cu o proteină (colipază) şi bicarbonat, care neutralizează acidul clorhidric conţinut de sucul gastric, ce ajunge la acest nivel împreună cu alimentele.

Bicarbonatul asigură un pH optim de acţiune al enzimelor intestinale (pH~6). Colipaza leagă atât lipidele din dietă cât şi lipaza, favorizând astfel acţiunea acesteia.

Lipaza pancreatică hidrolizează acizii graşi din poziţiile 1 şi 3 din structura triacilglicerolilor, produşii de digestie fiind acizii graşi liberi şi 2-monoacilglicerol.

Scanned with OKEN Scanner

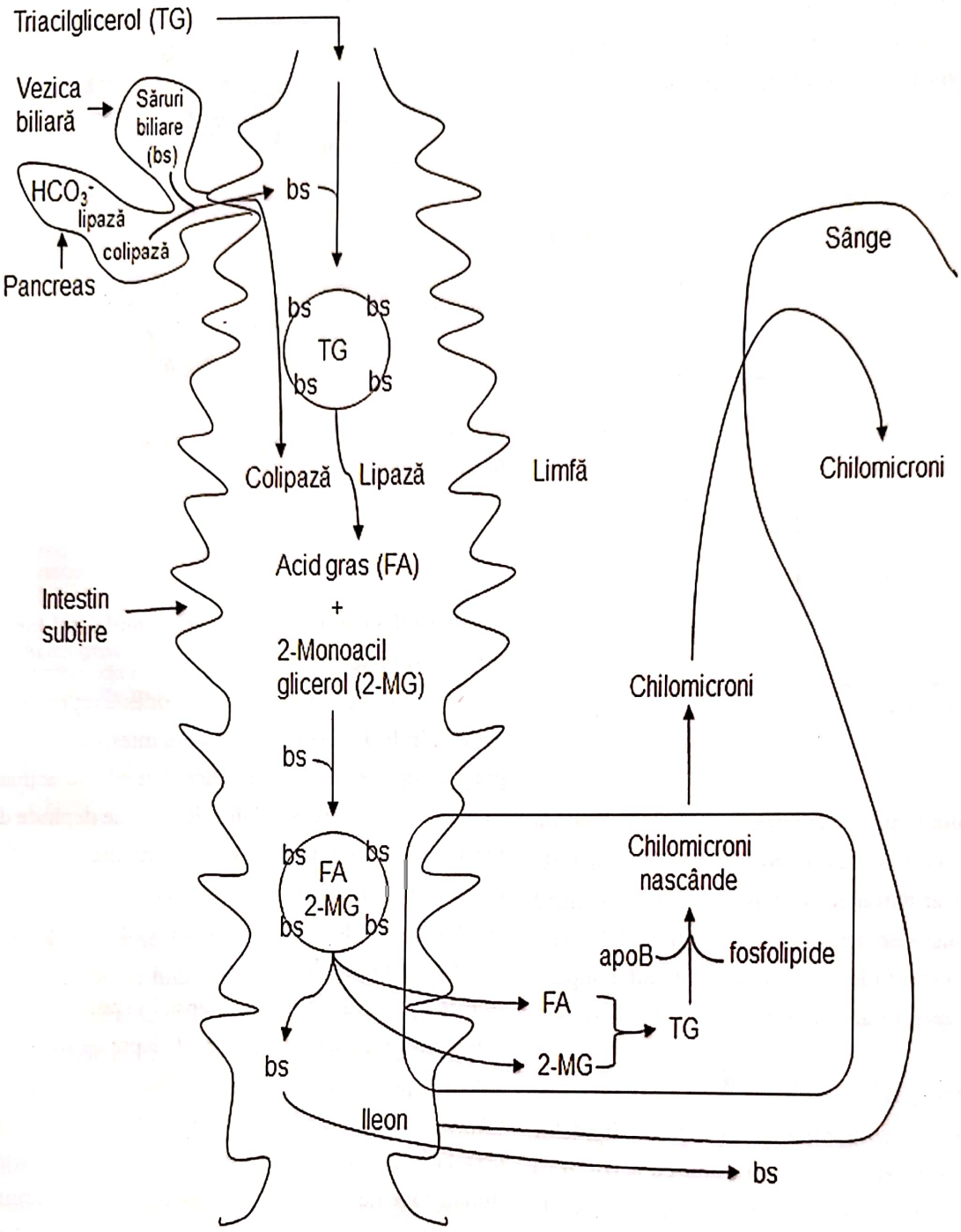


Fig. 10.8. Digestia triacilglicerolilor în lumenul intestinal (modificat după Marks Biochemistry, 2005)

Pancreasul secretă alături de lipaze și alte hidrolaze specifice:

- *esteraze* ce îndepărtează acizii grași din structura unor compuși precum esteri ai colesterolului;
- *fosfolipaze* ce hidrolizează fosfolipidele în părțile lor componente.

Absorbția acizilor grași, a monoacilglicerolilor precum și a altor lipide din dietă (colesterol, vitamine liposolubile) are loc după formarea prealabilă de micelii simple sau mixte cu ajutorul sărurilor biliare. (Fig. 10.9).

Miceliile sunt absorbite la nivelul mucoasei intestinale (spațiile intervilozitare ale jejunului proximal). La nivelul peretelui intestinal are loc refacerea com-

Scanned with OKEN Scanner

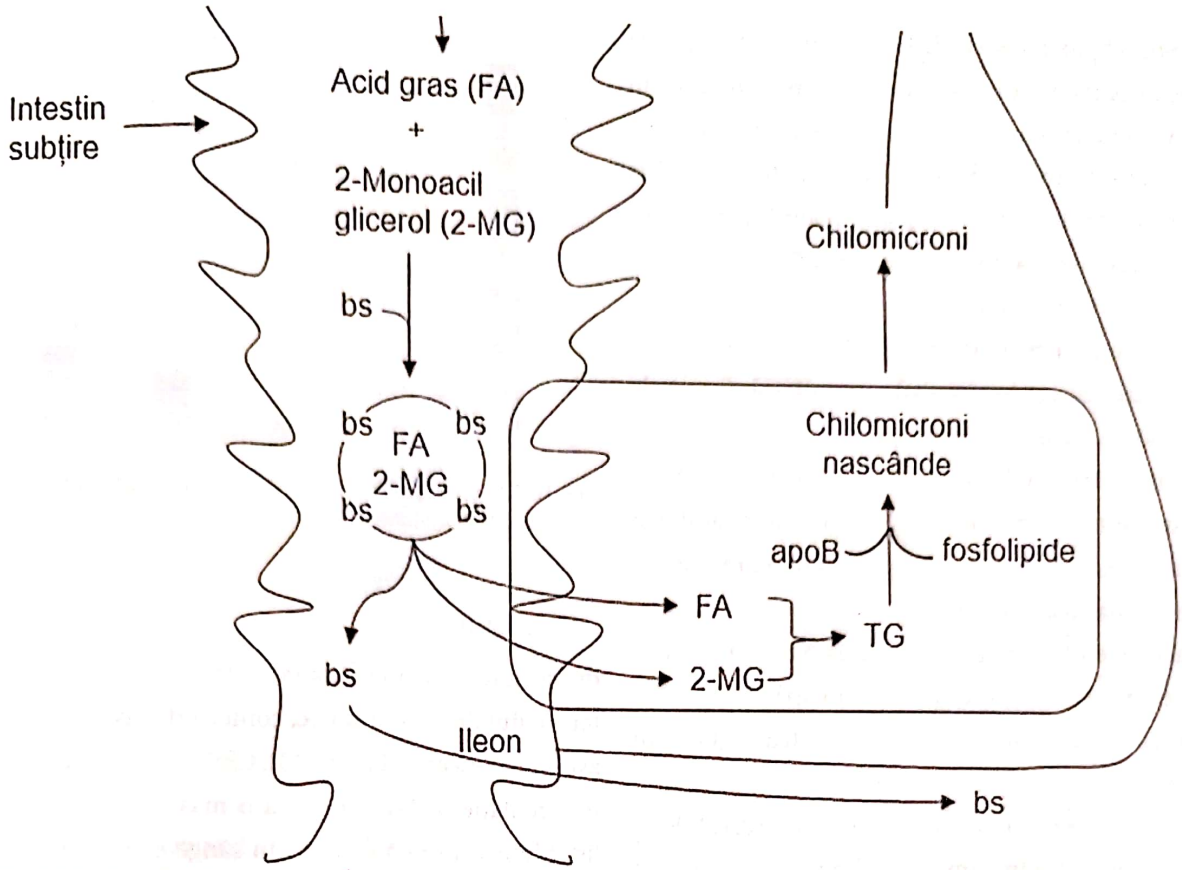


Fig. 10.9. Absorbția lipidelor din dietă (modificat după Marks Biochemistry, 2005)

pușilor inițiali din componentele hidrolizate (reacilarea glicerolului are loc în proporție de 90%). Acizii grași sunt activați formând acil-CoA, aceasta reacționează cu 2-monoacilglicerolul formând diacilglicerol, ce este esterificat cu o altă moleculă de acil-CoA refăcându-se astfel triacilglicerolii (Fig. 10.10).

După îndeplinirea rolului lor de emulsionare și ab-

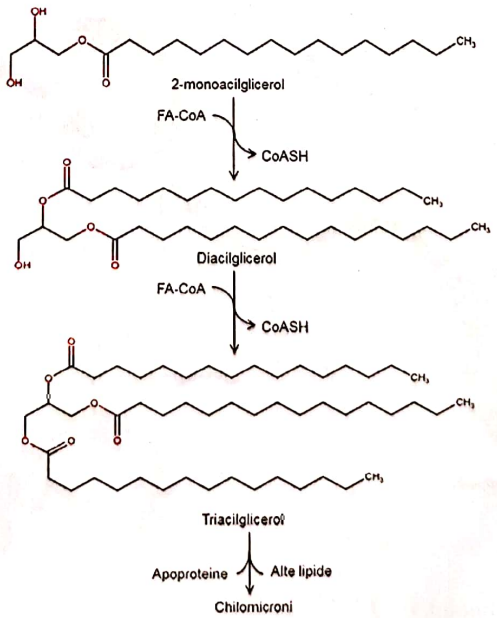


Fig. 10.10. Activarea acizilor grași și sinteza triacilglicerolilor

Scanned with OKEN Scanner

sorbţie a lipidelor, sărurile biliare sunt reabsorbite la nivelul porţiunii distale a ileonului prin mecanism activ. De aici ajung prin circulaţia portală la ficat unde suferă procese de remaniere, pentru ca apoi sa fie eliberate din nou în intestin, realizând astfel un circuit (circuit entero-hepatic) (vezi Fig. 10.11).

Acizii graşi cu un număr de atomi de carbon redus (4-12) nu au nevoie de acizii biliari pentru solubilizare: trec direct în circulaţia portală sub formă de complexe cu albumina serică.

Resinteza triacilglicerolilor la nivelul peretelui intestinal este diferită de cea de la nivelul ficatului şi ţesutului adipos, 2-monoacilglicerolul reprezentând intermediarul acestei sinteze.

Triacilglicerolii sunt transportaţi sub formă de lipoproteine deoarece sunt insolubili în apă.

Celulele intestinale împachetează triacilglicerolii împreună cu proteine, fosfolipide, colesterol şi vitamine liposolubile, în chilomicroni (Fig. 10.12). Proteinele care intră în compoziţia lipoproteinelor sunt cunoscute sub denumirea de apoproteine.

Apoproteina majoră asociată chilomicronilor născânzi este reprezentată de apo-B48. Chilomicronii sunt eliberaţi în circulaţia limfatică prin exocitoză şi

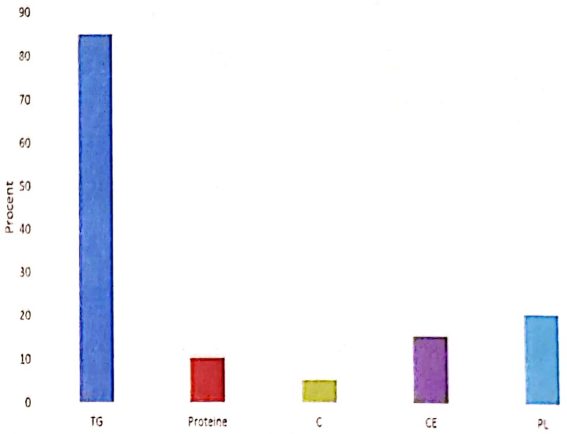


Fig. 10.12. Compoziţia chilomicronilor (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

de aici ajung în circulaţia sanguină prin intermediul ductului toracic, conferind plasmei aspect lactescent (Fig. 10.13). Chilomicronii apar în circulaţie la 1-2 ore după o masă bogată în lippide şi continuă să intra în sânge câteva ore după masă şi dispar la 6-7 ore. Iniţial, aceste particule eliberate în plasmă se numesc chilomicroni nâscânzi si sunt caracterizati de prezenta apolipoproteinelor C (apoCII) şi E (apoE) realizata prin transferul acestor proteine de pe

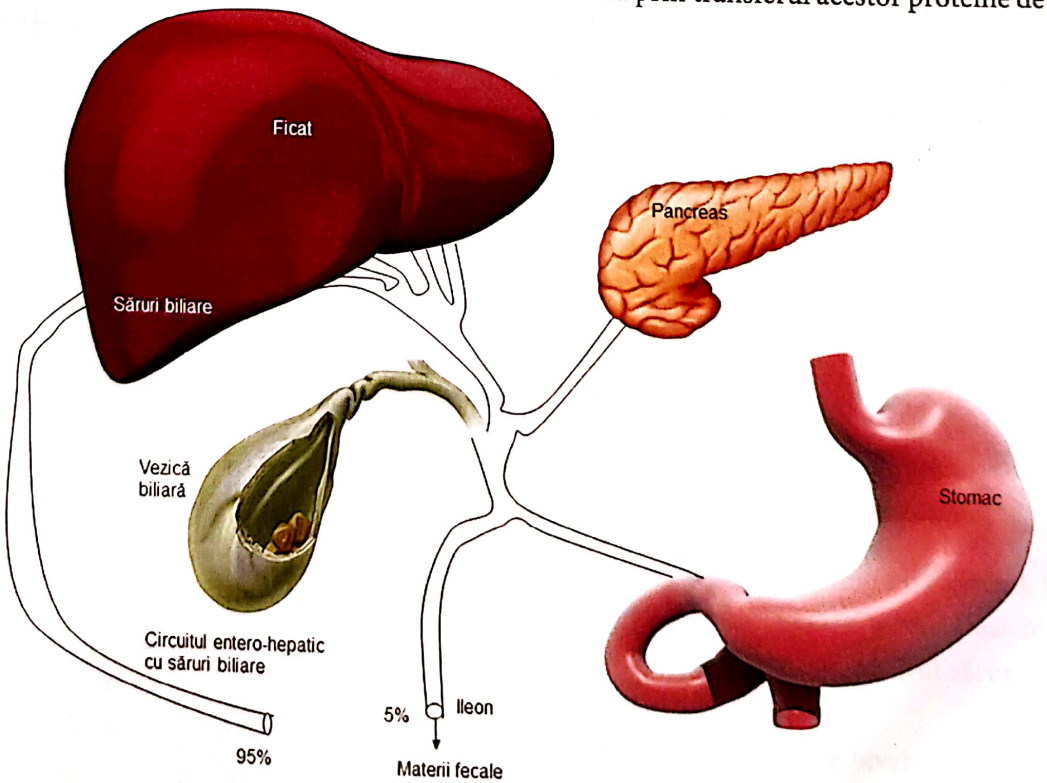


Fig. 10.11. Circuitul entero-hepatic (modificat după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

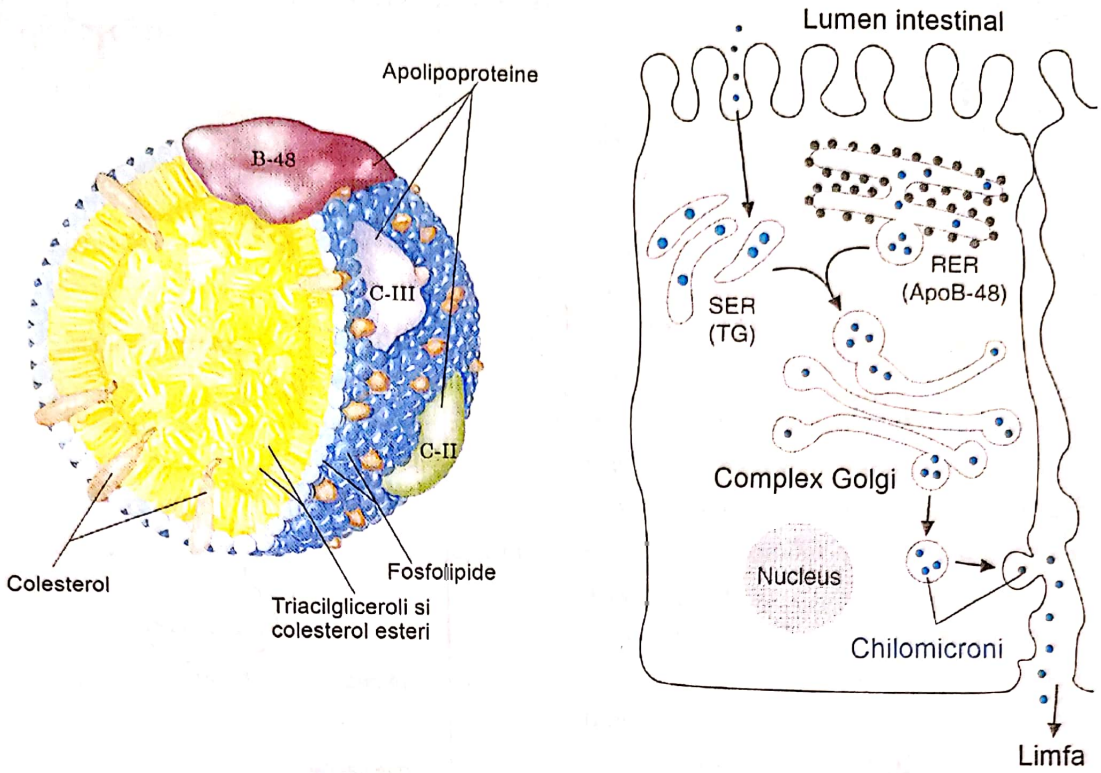


Fig. 10.13. Structura și sinteza chilomicronilor (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

HDL, formând chilomicroni "maturi" (vezi Fig. 10.14). Triacilglicerolii din compoziția chilomicronilor sunt scindați de către lipoproteinlipaze, enzime ce se găsesc atașate la proteoglicanii din membrana bazală a celulelor endoteliale ale capilarelor sanguine de la nivelul țesuturilor periferice (ficat, mușchi scheletici, țesut adipos) (Fig. 10.15). Acizii grași liberi rezultați sunt preluați de către țesuturi (mușchi scheletici) și oxidați până la CO_2, H_2O și energie.

Postprandial, acizii grași din dietă sunt preluați de către țesutul adipos și depozitați sub formă de triacilgliceroli (Fig. 10.16).

Glicerolul rezultat în urma acțiunii lipoproteinlipazei este utilizat de către ficat pentru sinteza triacilglicerolilor.

Resturile chilomicronice cerămân în sânge după acțiunea lipoproteinlipazelor sunt captate de ficat prin atașarea de receptorii specifici pentru apoE prezenți în membrana hepatocitului și pătrund la nivelul acestora prin endocitoză.

La nivelul hepatocitului are loc fuzionarea veziculelor endocitate cu lizozomii și digestia resturilor chilomicrónice de către enzimele lizozomale. Produșii lizozomali de digestie (acizi grași, aminoacizi, glicerol, colesterol, fosfat) pot fi reutilizați de către celule.

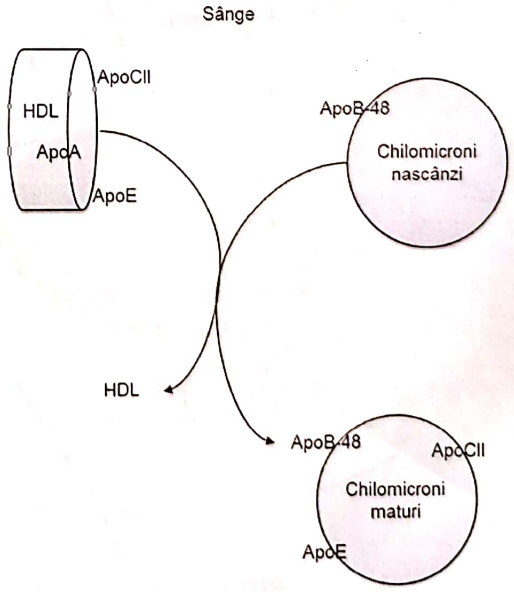


Fig. 10.14. Chilomicronii născânzi (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

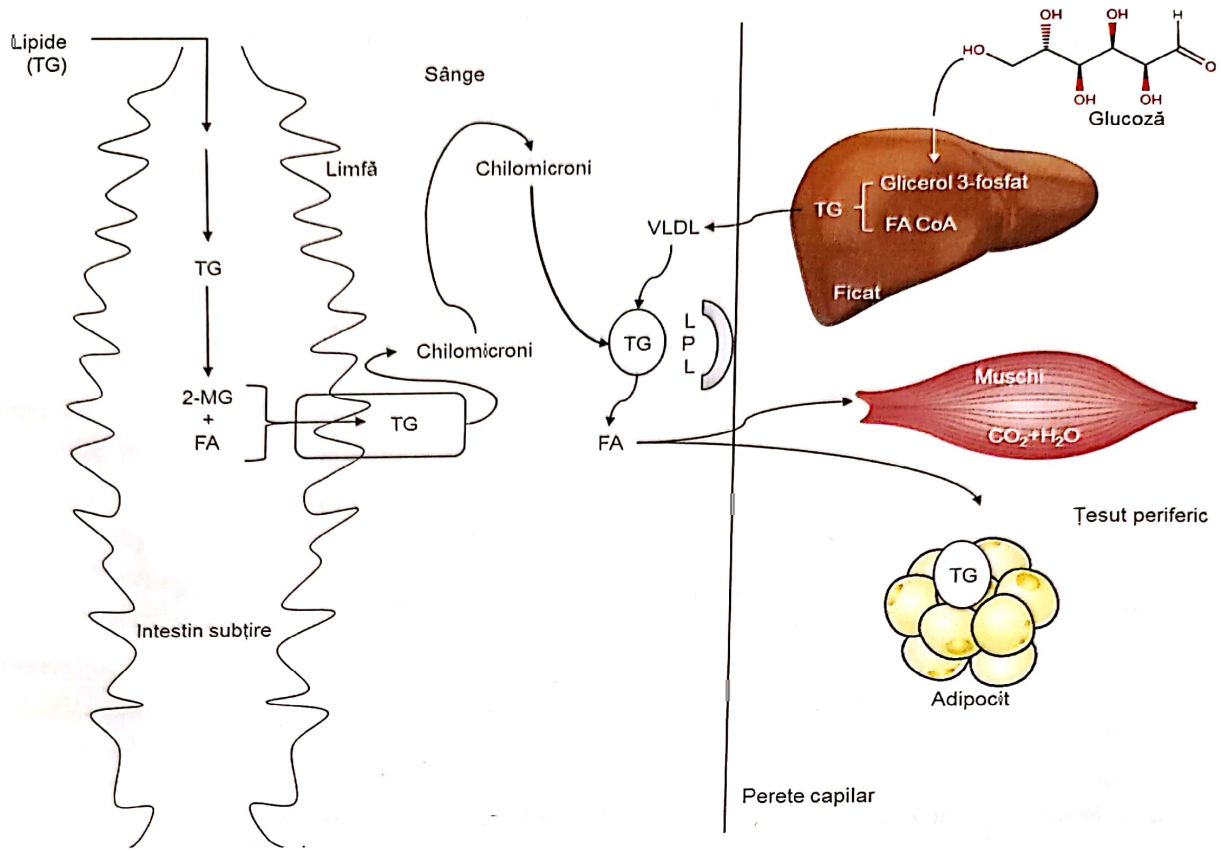


Fig. 10.15. Digestia și absorbția lipidelor. Privire generală (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

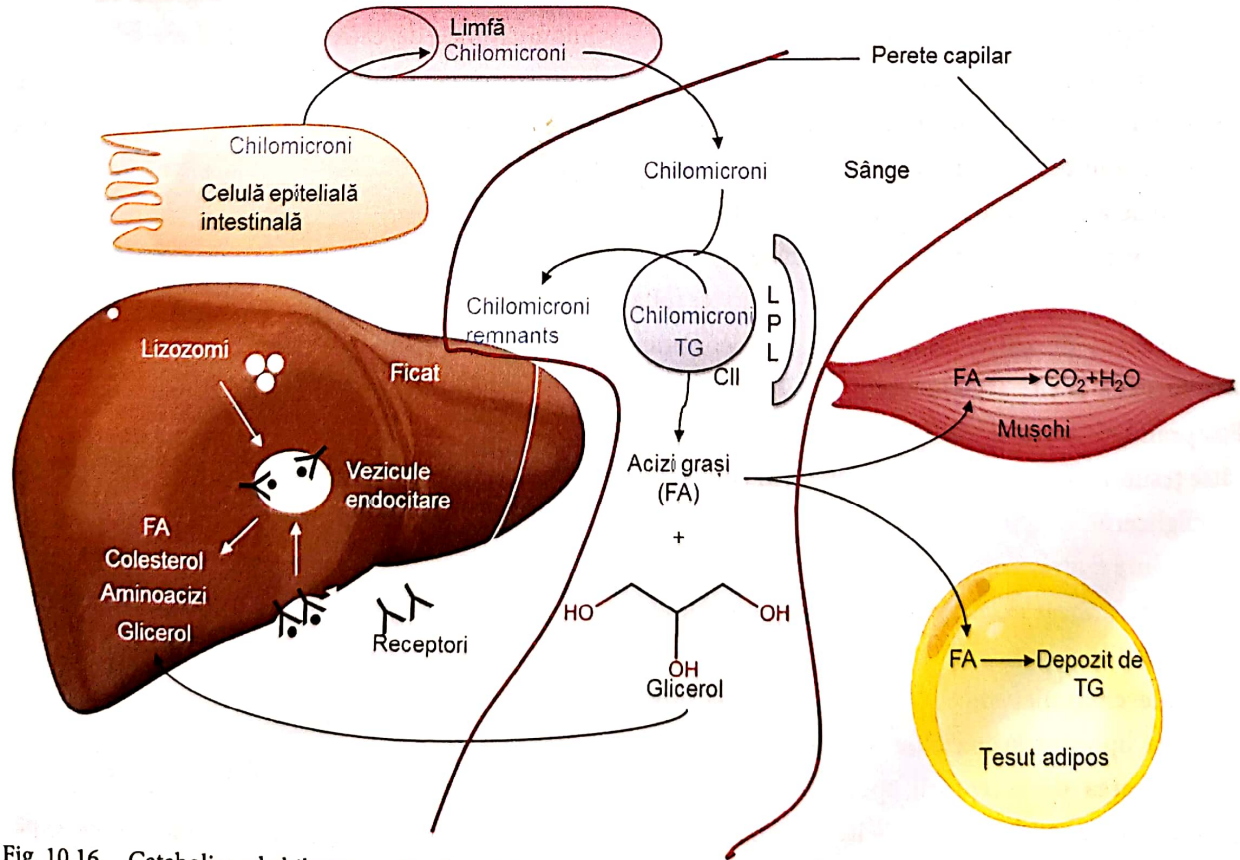


Fig. 10.16. Catabolismul chilomicronilor (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Generarea de ATP din acizi graşi şi corpi cetonici

Oxidarea acizilor graşi reprezintă sursa majoră de energie a organismului uman în perioadele dintre mese. Aceştia sunt oxidaţi cu precădere la nivelul mitocondriilor prin procesul de β-oxidare din care rezultă acetil CoA şi energie sub formă de ATP. Oxidarea acetil-CoA în ciclul Krebs furnizează suplimentar ATP.

Acizii graşi reprezintă substratul energetic preferat al unor ţesuturi precum muşchi scheletici, miocard, atunci când nivelul acestora în sânge este crescut (în perioadele dintre mese când sunt eliberaţi din de-pozite).

Creierul şi alte ţesuturi nervoase nu utilizează direct acizii graşi ca sursă de energie, eritrocitul nu poate utiliza nici el acizii graşi deoarece acesta nu posedă mitocondrii.

Ficatul obţine şi el energia necesară prin β-oxidarea acizilor graşi, dar la acest nivel majoritatea acetil-CoA formată este convertită în mitocondrii, la corpi cetonici (acetoacetat şi β-hidroxibutirat), ce sunt eliberaţi în sânge.

Corpii cetonici servesc drept sursă de energie pentru unele ţesuturi precum ţesutul muscular şi rinichi. Creierul poate folosi corpii cetonici ca sursă de energie dar numai atunci când concentraţia lor este crescută (inaniţie, diabet).

Ficatul nu poate utiliza drept sursă de energie corpii cetonici deoarece nu posedă echipamentul enzimatic necesar, de asemenea eritrocitul nu posedă mitocondrii şi deci nu poate nici el utiliza corpii cetonici.

Acizii graşi proveniţi din dietă sau sintetizaţi în ficat din glucoză sunt degradaţi sub acţiunea unor complexe enzimatice cu localizări diferite în funcţie de numărul atomilor de carbon din structura acizilor graşi.

Acizii graşi pot fi împărţiţi în patru grupe:

- *cu lanţ scurt de atomi de carbon*: 2-3 atomi de carbon;
- *cu lanţ mediu*: 4-12 atomi de carbon;
- *cu lanţ lung*: 12-20 atomi de carbon;
- *cu lanţ foarte lung*: peste 20 de atomi de carbon.

În organism predomină acizii graşi cu lanţ lung (14-20 atomi de carbon), care datorită caracteului lor hi-

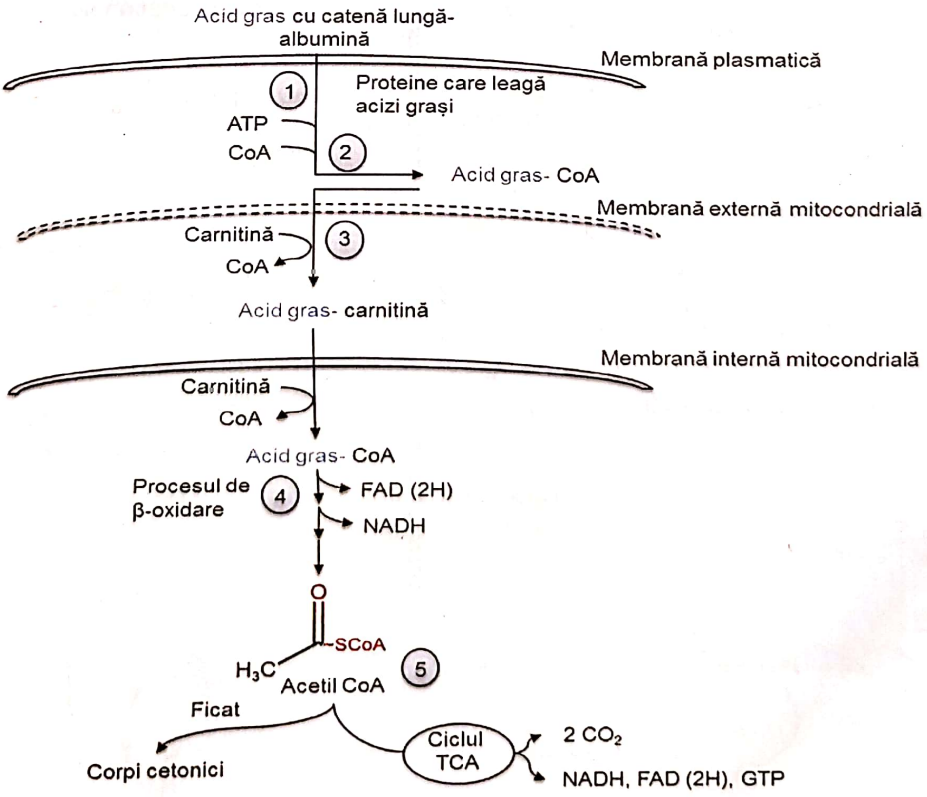


Fig. 10.17: Procesul de oxidare al acizilor graşi (modificat după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

drofob circulă prin sânge sub forma complexelor cu albumina şi pătrund în celule sub forma complexelor cu FABP (fatty acid binding proteins). Oxidarea completă a unui acid gras se desfăşoară în trei etape, dintre care doar prima este specifică degradării acizilor graşi:

1. β-oxidarea - proces specific din care rezultă acetilCoA;
2. ciclul Krebs - degradarea oxidativă a resturilor acetil cu formare de CO_2 şi coenzime reduse;
3. lanţul respirator - oxidarea coenzimelor reduse în lanţul respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă. Prin fosforilare oxidativă energia este conservată în ATP.

Ultimele două etape sunt căi oxidative terminale comune tuturor compuşilor energogeni (glucide, lipide, proteine) (Fig. 10.17).

β oxidarea acizilor graşi necesită activarea acestora sub acţiunea acilCoA sintetazei (tiokinazei) ce utilizează ATP-ul pentru a produce un acil adenilat (acilAMP) care cedează restul acil pe CoASH cu formarea acilCoA (Fig. 10.18). Acest proces are loc pe faţa citosolică a mitocondriilor şi necesită consum de ATP.

După activare, acizii graşi sunt transportaţi cu ajutorul carnitinei în mitocondrii. La acest transport mai participă şi două acil transferaze localizate una pe faţa externă iar cealaltă pe faţa internă.

Carnitina se obţine din dietă sau este sintetizată în organism din lizină şi implică transferul grupării metil de la S-adenozin-metionină şi reacţii de oxidare care necesită acid ascorbic.

Membrana internă mitocondrială cuprinde o proteină transportoare (translocază) care transportă cuplat acil-carnitina în matrix şi carnitina în sens invers (Fig. 10.19, 10.20).

Procesul de β oxidare constă în repetarea de (n/2)-1 (unde n este numărul de atomi de carbon ai acidului

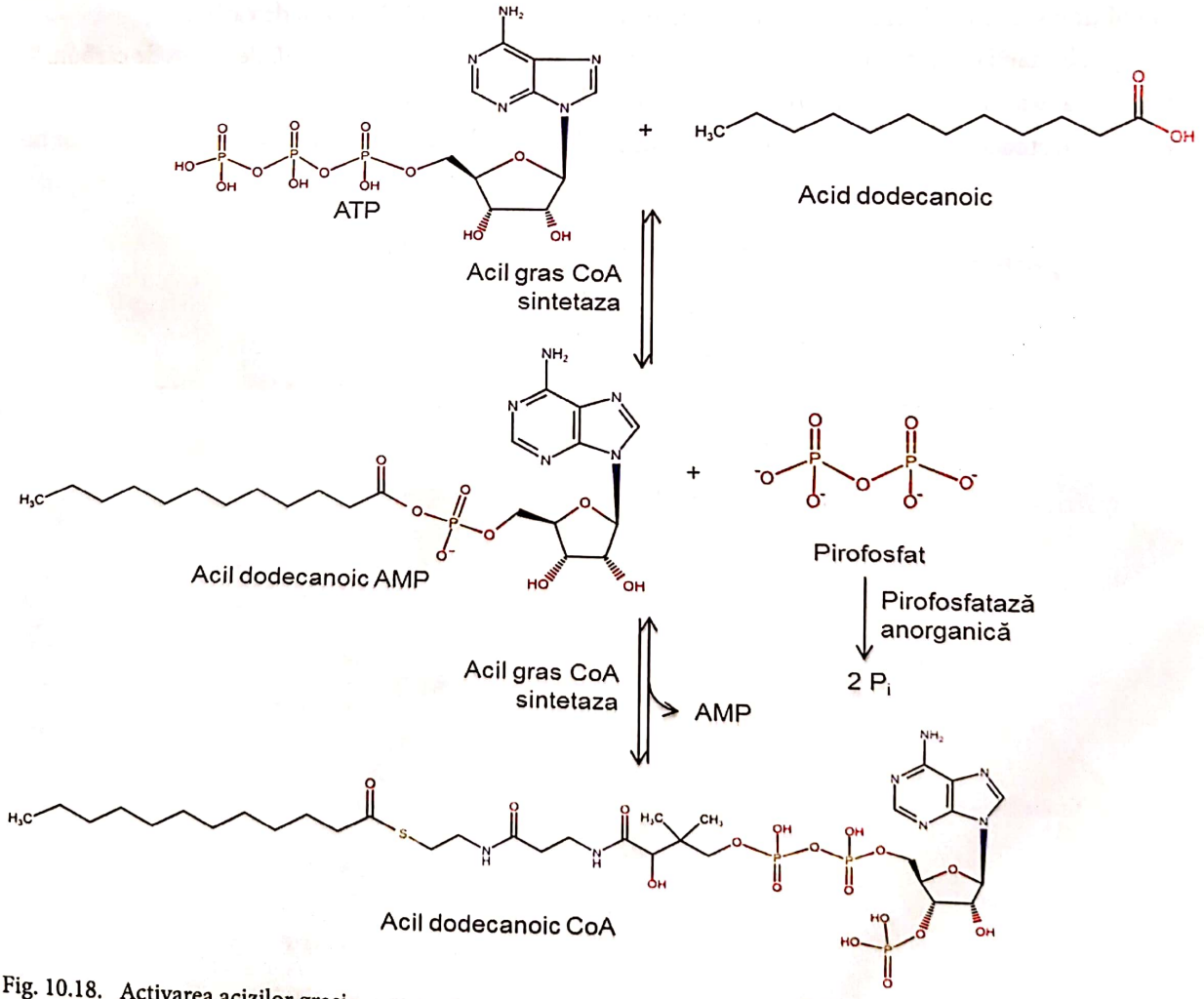


Fig. 10.18. Activarea acizilor graşi

Scanned with OKEN Scanner

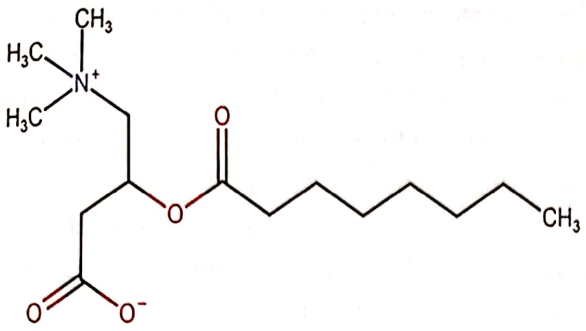


Fig. 10.19. Transportul acil-carnitinei

gras) a unei secvenţe de patru reacţii cu formarea de $FADH_2$, NADH şi AcetilCoA. Fiecare set de reacţii scurtează catena acidului gras cu 2 atomi de carbon ce sunt eliberaţi sub formă de acetilCoA. Procesul de βoxidare poate fi descris ca o spirală care îndepărtează doi atomi de carbon (Fig. 10.21.).

Cele patru reacţii constau din două dehidrogenări separate de o reacţie de hidratare, urmată de scindarea legăturii Cα – Cβ, cu formarea acetil-CoA şi un derivat acil cu doi atomi de carbon mai puţin.

1. Dehidrogenarea. În prima treaptă a procesului de β-oxidare, doi atomi de hidrogen împreună cu electronii lor sunt transferaţi de la atomii de carbon α şi β (carbonii 2 şi 3) unei enzime FAD dependente (acilCoA dehidrogenaza), acidul gras devenind astfel enoil-CoA.

Există patru *Acil~SCoA dehidrogenaze* diferite, fiecare fiind specifică unui domeniu de lungimi ale lanţurilor de acizi graşi:

-(VLCAD) very long-chain acyl-CoA dehydrogenase - enzimă ce catalizează prima reacţie din ficat, aceasta acţionează asupra acizilor graşi cu lungime cuprinsă între 20-14 atomi de carbon;

- (LCAD) long-chain acyl-CoA dehydrogenase – acţionează asupra lanţurilor ce cuprind între 18 – 12 atomi de carbon;

- (MCAD) medium-chain acyl-CoA dehydrogenase – acţionează asupra lanţurilor medii, ce conţin între 12-4 atomi de carbon;

- (SCAD) short-chain acyl-CoA dehydrogenase – acţionează asupra lanţurilor scurte ce cuprind între 6 şi 4 atomi de carbon.

$FADH_2$ format cedează perechea de hidrogeni lanţu-

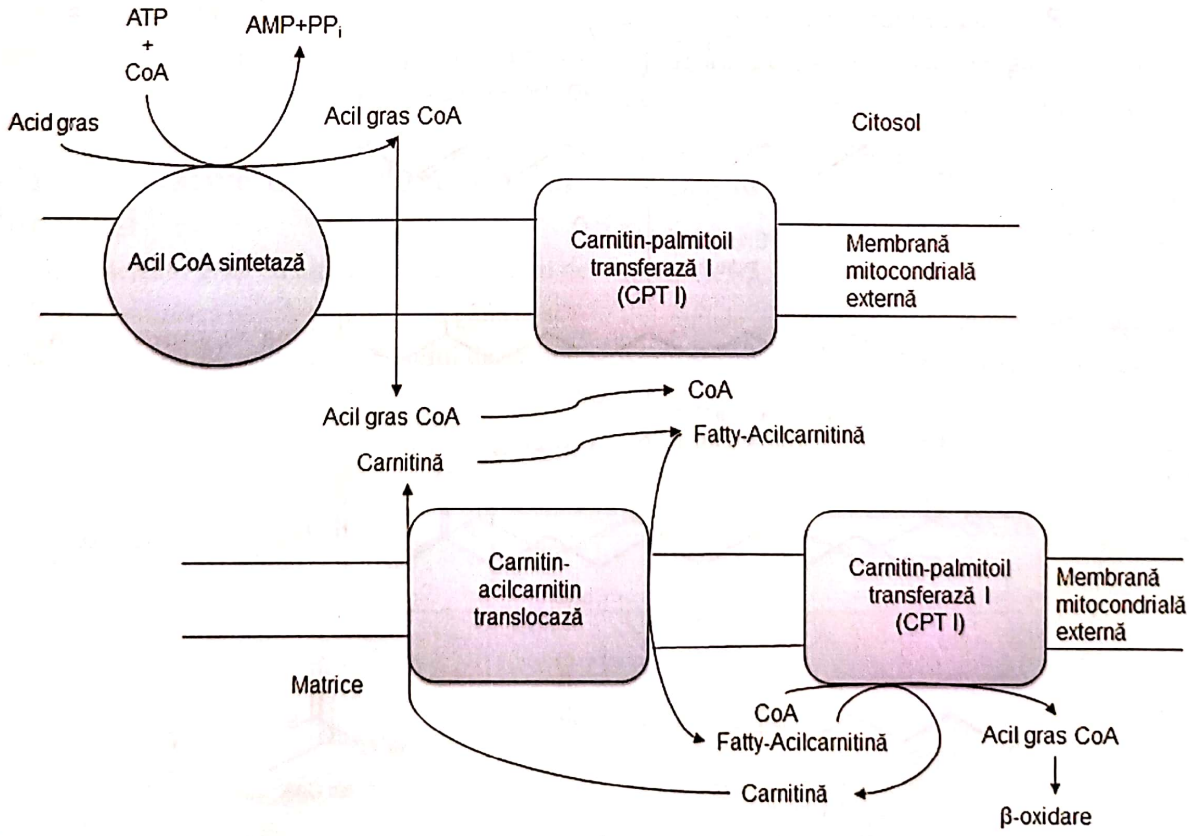


Fig. 10.20. Transportul acizilor graşi în mitocondrie (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

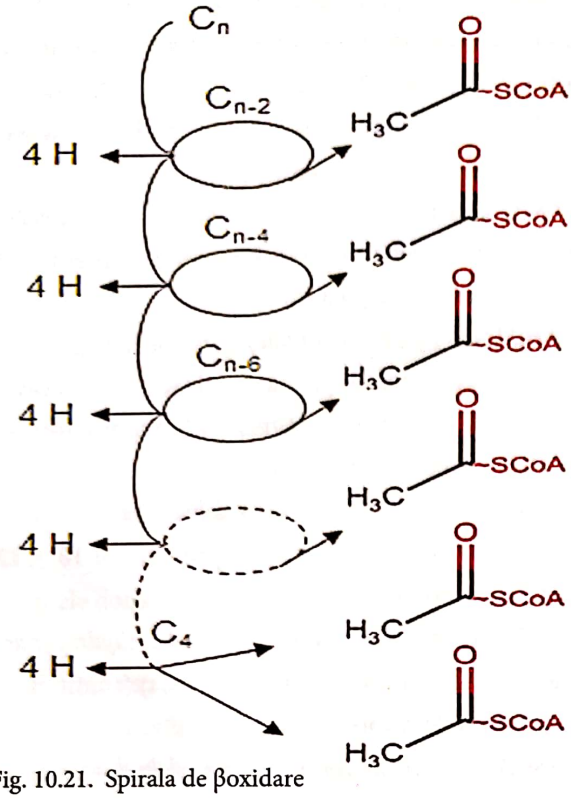


Fig. 10.21. Spirala de βoxidare

lui respirator, care prin intermediul fosforilării oxidative generează 1,5 moli de ATP per mol de $FADH_2$.

2. Hidratarea. În etapa următoare prin adiția apei la dubla legătură sub acțiunea enzimei Enoil~SCoA hidrataza (crotonaza), rezultă *β hidroxi-acil~SCoA*.

3. Dehidrogenarea. β hidroxi-acil~SCoA suferă un proces de dehidrogenare, carbonul β fiind transformat în gruparea - C = O. Enzima care acționează în această etapă este *β-hidroxiacil ~ SCoA dehidrogenaza* (NAD^+ dependentă), rezultând β cetoacil~SCoA.

NADH + H^+ este oxidat în lanțul respirator, cuplat cu fosforilarea oxidativă, având ca rezultat 2,5moli ATP per mol de NADH (Fig. 10.22).

4. Tioliza. Ultima etapă a procesului de β oxidare catalizată de *β-cetoacil~SCoA tiolaza*, constă în scindarea β-cetoacil~SCoA prin interacțiunea sa cu o moleculă liberă de CoA~SH liberă, produșii de reacție fiind acil~SCoA (cu doi atomi de carbon mai

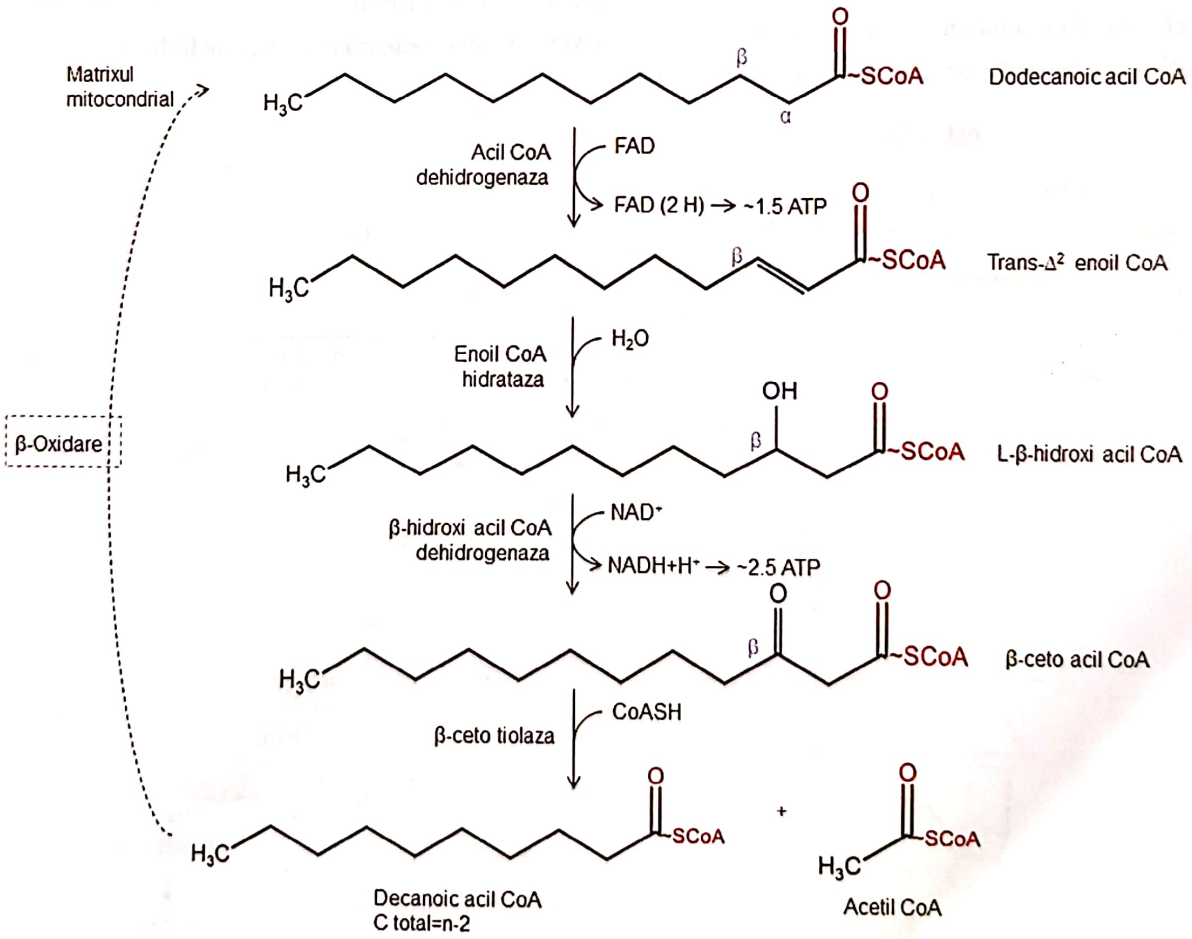


Fig. 10.22. Procesul de βoxidare (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

puţin) şi un fragment de doi atomi de carbon: acetil~SCoA.

Astfel, oxidarea completă a palmitoil-CoA, ce conţine 16 atomi de carbon, presupune parcurgerea decvenţei de 4 reacţii de 7 ori. Rezultă astfel, 7 $FADH_2$, 7 NADH, şi 8 acetilCoA.

Echivalenţii reducători ($FADH_2$ şi NADH) se angajează în lanţul transportorilor de hidrogen şi electroni. Având în vedere că dintr-un mol de $FADH_2$ se obţin 1,5 moli de ATP iar dintr-un mol de NADH se obţin 2,5 moli de ATP, vor rezulta la final 14 moli de ATP din $FADH_2$ şi 21 moli de ATP din NADH. Acetil CoA este degradată via ciclul acizilor tricarboxilici rezultând 96 moli de ATP.

Bilanţul oxidării complete al palmitoil-CoA este de 131 moli de ATP, dintre aceştia 2 moli de ATP se consumă în etapa de activare, bilanţul net fiind de 129 moli de ATP.

Prin oxidarea acizilor graşi se obţine o cantitate mai mare de energie per atom de carbon, decât cea obţinută prin oxidarea carbohidraţilor. Ţesuturile care nu prezintă mitocondrii, precum eritrocitul, nu pot oxida acizii graşi prin β-oxidare. Acizii graşi, nu reprezintă sursa primordială de energie pentru creier şi celelalte ţesuturi nervoase.

Căi alternative de oxidare a acizilor graşi

Oxidarea acizilor graşi cu număr impar de atomi de carbon se realizează pe calea β-oxidării, până la acetil CoA şi un rest de acilCoA cu 5 atomi de carbon. Restul acil este clivat cu ajutorul unei tiolaze până la acetil CoA şi propionil CoA.

Prin carboxilarea propionil CoA se obtine succinil-CoA, intermediar al ciclului Krebs, (Fig. 10.23). Succinil~SCoA are următoarele posibilităţi metabolice:

- integrarea în ciclul acizilor tricarboxilici, din care apoi prin lanţul respirator va rezulta energie;
- condesare cu glicina din care va rezulta nucleul porfirinic din structura hemoglobinei, mioglobinei, citocromilor şi altor substanţe cu importante roluri biologice;
- prin parcurgerea în sens invers a etapelor ciclului acizilor tricarboxilici, succinil~SCoA se poate integra în procesul de gluconeogeneză.

Oxidarea acizilor graşi nesaturaţi

În lipidele endogene şi cele alimentare, acizii graşi nesaturaţi se găsesc într-o proporţie ridicată. Cei mai răspândiţi sunt: acidul oleic, linoleic şi arahidonic.

Legăturile duble ale acizilor graşi nesaturaţi naturali se află în configuraţie cis, în timp ce intermediarii Δ 2 ai acizilor graşi nesaturaţi cu CoA~SH din oxidarea acizilor graşi saturaţi, au configuraţia trans. Din aceste motive β-oxidarea acizilor graşi nesaturaţi, prezintă anumite particularităţi:

- acizii graşi nesaturaţi sunt degradaţi prin β-oxidare până în vecinătatea dublei legături, cu formare de acetil~SCoA ;
- sistemele enzimatice mută dubla legătură dintr-o poziţie incompatibilă cu β-oxidarea, în alta, care exi-

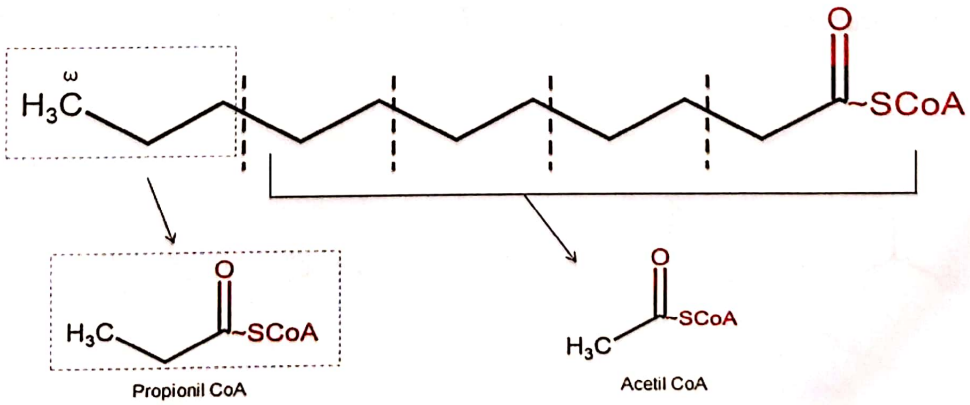


Fig. 10.23. Carboxilarea propionil CoA

Scanned with OKEN Scanner

stă în compușii intermediari ai oxidării acizilor grași saturați;

• intervine o izomerază (enoil~SCoA izomeraza) care catalizează trecerea reversibilă a dublei legături de la configurația Δ 2 cis la configurația Δ 2 trans și restul acil se integrează în fluxul β-oxidării, ocolind prima etapă.

Mutarea dublelor legături și izomerizarea se face fără consum de energie, iar bilanțul energetic al acizilor grași nesaturați, este mai mic decât la oxidarea acizilor grași saturați.

α oxidarea acizilor grași este un proces prin care sunt degradați în organism acizi grași cu lanț de atomi de carbon foarte lung, acest proces implicând atomul de carbon α care este eliberat sub formă de CO2. Proces are loc în special în creier și alte țesuturi nervoase și oxidează acizii grași cu 20 sau mai mulți atomi de carbon.

Un proces similar este implicat în oxidarea acizilor grași ramificați precum acidul fitanic, ce se găsește în plante. Acidul fitanic este produs prin oxidarea fitolului un alcool cu 20 de atomi de carbon derivat din clorofilă. (Fig. 10.24). Acest acid cu 20 de atomi de carbon, ce conține grupări metil, pare să fie degradat în mitocondrie prin α oxidare urmată de parcurgerea spiralei β-oxidării din care rezultă propionilCoA și acetilCoA.

ω oxidarea acizilor grași are loc într-o proporție de 3% în în microzomii ficatului și rinichilor. Într-o succesiune de reacții, se formează acizii dicarboxilici, prin oxidarea ultimului atom de carbon (- CH3) din moleculă față de gruparea carboxil (poziția ω). Oxidarea trece prin fazele de alcool primar, aldehidă și în final grupare carboxil, formându-se acid dicarboxilic. Acidul dicarboxilic format în ω oxidare, urmează apoi spirala β-oxidării în mitocondrie, formând compuși cu 6-10 atomi de carbon, ce sunt excretați în urină.

Oxidarea acizilor grași în peroxizomi este un proces similar procesului de β oxidare, prin care acizii grași cu lanț foarte lung de atomi de carbon (20-26 atomi de carbon) sunt oxidați la nivelul peroxizomilor. În acest proces prima enzimă este diferită ea fiind o oxidază și nu o dehidrogenază, ce cedează electronii direct oxigenului molecular cu producere de apă oxigenată, generând astfel radicali liberi de oxigen. Catalaza, enzimă localizată în peroxizomi, convertește apa oxigenată la oxigen molecular și apă.

Oxidarea acizilor grași în peroxizomi conduce la acetil-CoA ce difuzează în mitocondrii unde este oxidată la CO2 și H2O cu sinteză cuplată de ATP sau este convertită în corpi cetonici (Fig. 10.25).

Amploarea β-oxidării acizilor grași în peroxizomi, în special la nivelul ficatului, variază în raport

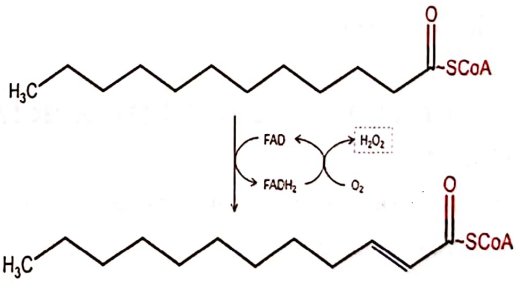


Fig. 10.25. Oxidarea acizilor grași în peroxizomi

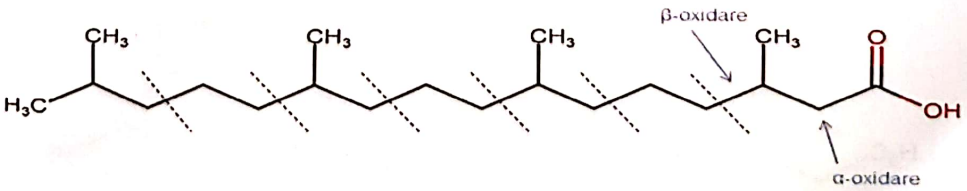


Fig. 10.24. Oxidarea acidului fitanic

Scanned with OKEN Scanner

cu factori nutriţionali, hormonali, medicamentoşi. Proliferarea peroxizomilor şi inducţia sistemului enzimatl acestora apare după ingestia unor diete bogate în acizi graşi superiori, în diabet, în inaniţie, dupa administarea unor medicamente hipolipemiante (clofibrat).

Metabolismul corpilor cetonici

Sinteza corpilor cetonici (cetogeneza) are loc în mitocondriile hepatocitelor. Corpii cetonici includ β-hidroxibutiratul, acidul acetoacetic şi acetona. Sinteza corpilor cetonici are loc ori de câte ori nivelul acizilor graşi în sânge este crescut (între mese, înfometare, dietă bogată în lipide şi scăzută în carbohidraţi).

Atunci când nivelul plasmatic al acizilor graşi este crescut, aceştia pătrund în hepatocit fiind metabolizaţi la nivelul mitocondriilor prin β-oxidare, rezultând acetil-CoA, NADH şi ATP. În aceste condiţii (post alimentar sau dietă bogată în lipide şi scăzută în carbohidraţi), raportul glucagon/insulină este crescut, ficatul sintetizând glucoză prin procesul de gluconeogeneză.

Piruvatul, format din lactat sau alanină, este convertit la oxaloacetat ce iese din mitocondrie în citosol sub formă de aspartat sau malat şi se angajează în gluconeogeneză. NADH rezultat în procesul de β-oxidare catalizează reacţia de formare a malatului din oxaloacetat.

Oxaloacetatul nu este suficient pentru a intra în re-

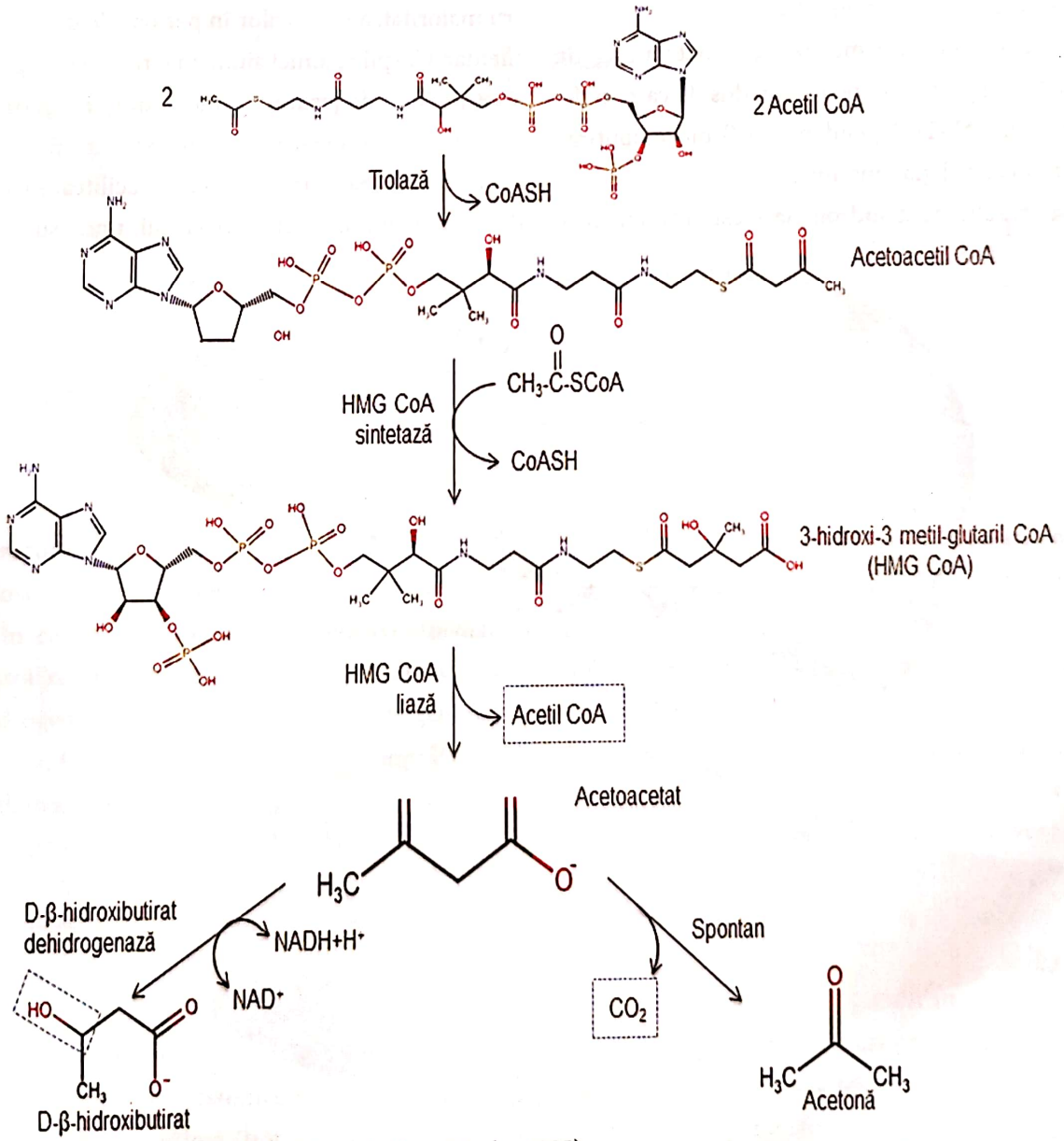


Fig. 10.26. Reacţia de clivare a HMG-CoA (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

acţia catalizată de citratsintază, acetilCoA se acumulează şi este angajată în sinteza corpilor cetonici. *Depleţia de oxaloacetat prin lipsa glucozei favorizează cetogeneza.*

În prima etapă două molecule de acetilCoA printr-o reacţie catalizată de tiolază formează acetoacetil-CoA. O altă moleculă de acetil CoA reacţionează cu acetoacetilCoA formând 3-hidroxi-3 metilglutaril CoA (HMG-CoA) şi eliberează coenzima A neacilată (CoASH). Reacţia este catalizată de HMG-CoA sintază ce este stimulată în perioadele de post alimentar şi inhibată de produsul său de reacţie, CoASH.

În următoarea etapă HMG-CoA liaza catalizează reacţia de clivare a HMG-CoA pentru a forma acetil CoA şi acetoacetat, vezi Fig. 10.26.

Acetoacetatul poate urma trei căi, poate ajunge în circulaţia sanguină sau poate fi redus de către o dehidrogenază NAD-dependentă la β-hidroxibutirat, ce intră în circulaţia sanguină.

Această reacţie de dehidrogenare este reversibilă şi asigură interconversia celor doi compuşi, ce trec în circulaţia sanguină de unde sunt captaţi de către diferite organe şi ţesuturi şi utilizaţi în scop energetic.

A treia cale pe care o poate urma acetoacetatul este reprezentată de decarboxilarea spontană printr-o reacţie neenzimatică, cu eliberare de CO_2 şi acetonă. (Fig. 10.27). Acetona fiind volatilă este eliminată prin plămâni.

Raportul NADH/NAD^+ reglează cantitatea de corpi cetonici formaţi. În organismul uman β-hidroxibutiratul este produs în cantitate mai mare decât acetoacetatul.

Oxidarea corpilor cetonici

Corpii cetonici reprezintă substratul energogen pentru majoritatea ţesuturilor în perioadele de post alimentar. Corpii cetonici ajung în circulaţia sanguină, sunt preluaţi de ţesuturi (rinichi, muşchi) şi oxidaţi. Pe durata înfometarii, nivelul sanguin al corpilor cetonici este foarte ridicat ceea ce facilitează pătrunderea acestora la nivelul creierului, unde sunt oxi-

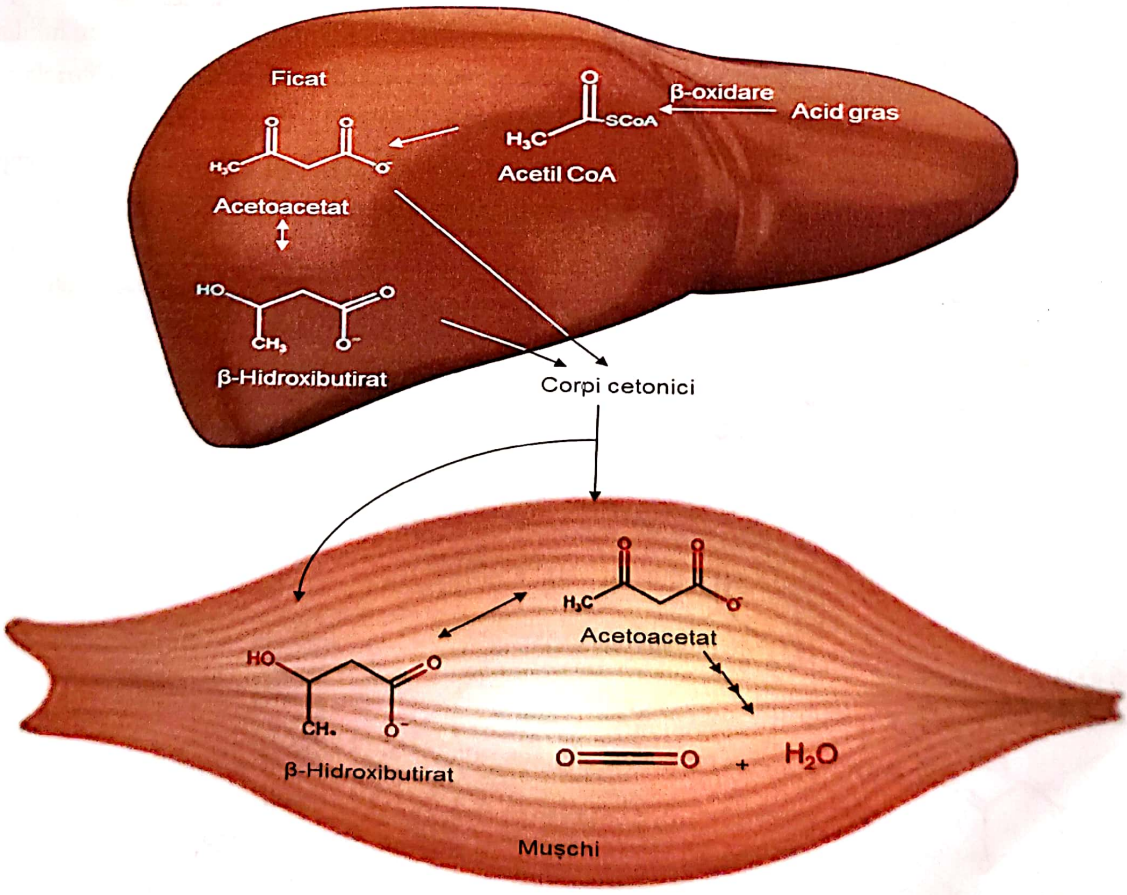


Fig. 10.27. Transferul corpilor cetonici de la ficat către alte ţesuturi (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

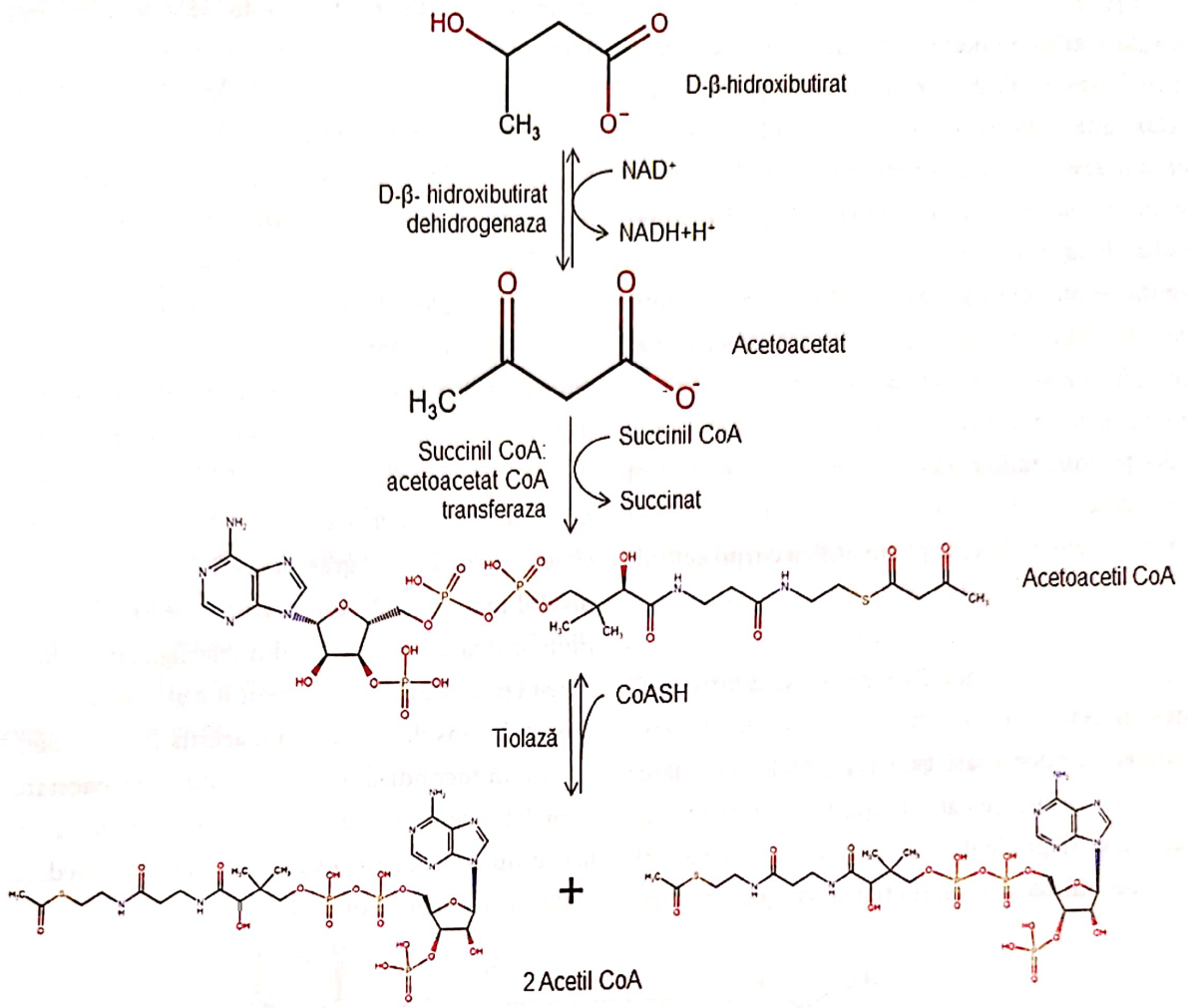


Fig. 10.28. Oxidarea corpilor cetonici (după Marks Biochemistry, 2005)

dați reducând necesarul de glucoză.

Acetoacetatul intră în celule direct sau poate fi produs în celulă prin oxidarea β-hidroxibutiratului. Această reacție este catalizată de β-hidroxibutirat dehidrogenază, ce produce NADH ce generează ATP prin fosforilare oxidativă. Din β-hidroxibutirat se eliberează mai multă energie decât din acetoacetat. Acetoacetatul este activat în mitocondrie printr-o reactie catalizată de succinilCoA:acetoacetat-CoA transferază. CoA este transferată pe acetoacetat prin intermediul succinilCoA, intermediar al ciclului acizilor tricarboxilici. Rezultă acetoacetil CoA și succinat. (Fig. 10.28).

Ficatul produce corpi cetonici dar nu îi poate utiliza deoarece această enzimă (tiotransferază) nu este în cantitate suficientă. β-cetotiolaza, aceeași enzimă implicată și în β-oxidare catalizează reacția de clivare a acetoacetilCoA în două molecule de acetil-CoA ce intră în ciclul acizilor tricarboxilici cuplat cu fosforilarea oxidativă rezultând 24 moli ATP. Dintre aceștia 1 mol este consumat în etapa de activare a acetoacetatului, bilanțul net fiind de 23 moli de ATP. Acizii grași eliberați din țesutul adipos servesc drept sursă majoră de energie pentru organism în perioadele de post. Acești acizi sunt oxidați complet până la CO_2 și H2O de către unele țesuturi. Ficatul oxidează acizii grași, convertind acetilCoA în corpi cetonici, ce sunt furnizați altor țesuturi prin intermediul circulației sanguine. Aceste țesuturi utilizează energia rămasă pentru a transforma corpii cetonici în ATP,

Scanned with OKEN Scanner

CO_2 şi H_2O.

Energia totală obţinută prin oxidarea parţială a acizilor graşi în ficat şi trimiterea corpilor cetonici către alte ţesuturi pentru a fi degradaţi complet, este aproape la fel ca aceea obţinută prin degradarea completă a acizilor graşi până la CO_2 şi H_2O la nivelul aceluiaşi ţesut.

Avantajele oferite de sinteza corpilor cetonici sunt:

1. ficatul obţine energia necesară altor procese precum gluconeogeneza, din oxidarea parţială a acizilor graşi şi formarea corpilor cetonici;
2. alte ţesuturi utilizează corpii cetonici ca substrat energogen;
3. în înfometare creierul poate utiliza corpii cetonici, reducând necesarul de glucoză.

Reglarea oxidarii acizilor graşi şi a utilizării corpilor cetonici

Oxidarea acizilor graşi este reglată de reoxidarea $FADH_2$ şi NADH de către lanţul transportorilor de electroni ce depinde de cantitatea de ATP necesară. Muşchiul utilizează preferenţial acizii graşi ca sursă de energie. Atunci când aceştia se găsesc în cantitate mare, oxidarea glucozei la nivelul muşchilor este inhibată prin inactivarea piruvatdehidrogenazei de către nivelul crescut al NADH şi acetilCoA rezultate din β-oxidare Acumularea intermediarilor glicolizei, în special a glucozo-6-fosfatului inactivează hexokinaza, blocând astfel intrarea glucozei în calea glicolitică. După un prânz bogat în glucide, când se sintetizează acizi graşi (proces citosolic), oxidarea lor în hepatocit este împiedicată de către malonilCoA prin inhibiţia carnitin-acil transferazei ce transportă acizii graşi din citosol în mitocondrie. În perioadele interdigestive (fasting) când sinteza de acizi graşi la nivelul ficatului şi nivelul malonilCoA sunt scăzute, are loc mobilizarea acizilor graşi din triacilglicerolii de la nivelul ţesutului adipos ca rezu-ltat al scăderii raportului insulină/glucagon, aceştia fiind oxidaţi la nivelul mitocondriilor hepatocitului. Oxaloacetatul şi malatul se angajează în gluconeo-geneză, ducând la acumularea acetilCoA ce va fi utilizată în vederea sintezei de corpi cetonici

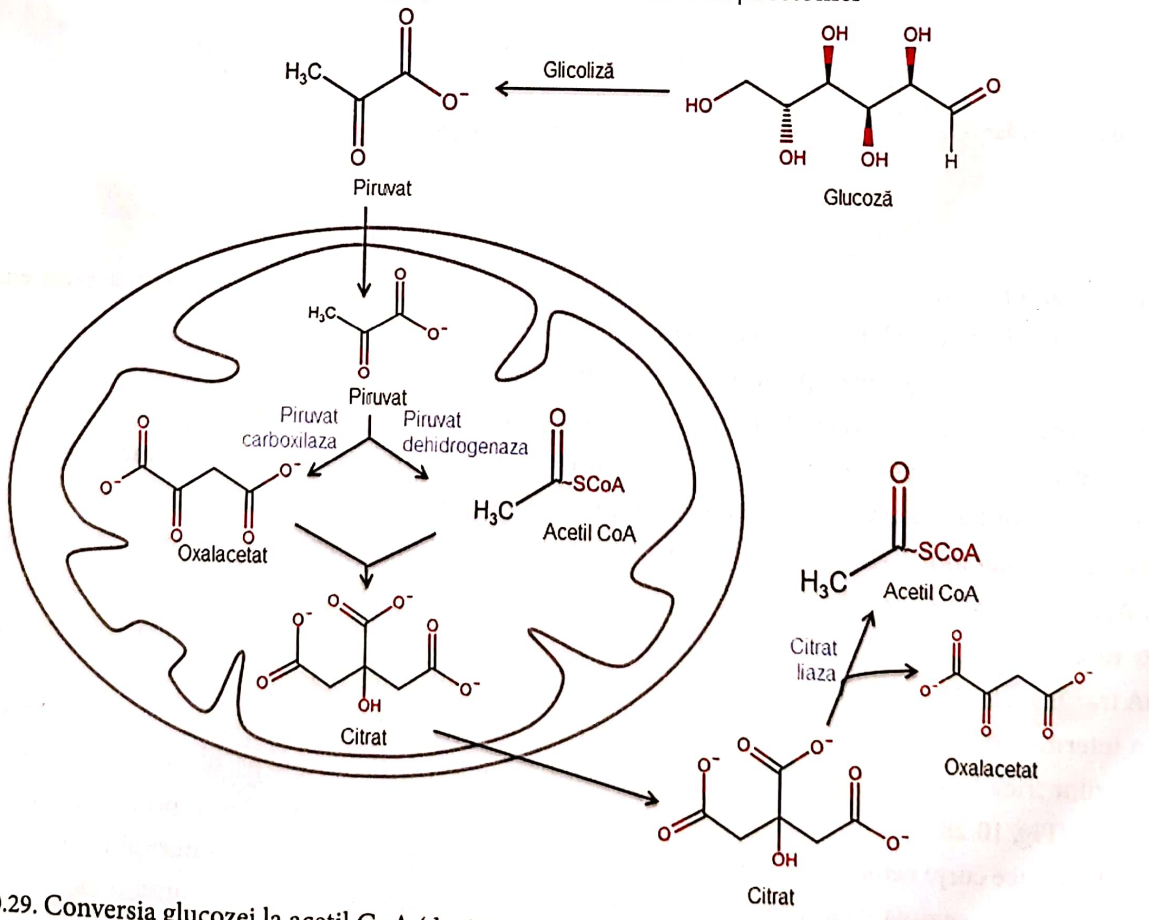


Fig. 10.29. Conversia glucozei la acetil CoA (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

prin inducerea HMG-CoA sintazei.

Sinteza acizilor graşi

Sinteza acizilor graşi în organismul uman are loc cu precădere în ficat, sursa majoră a atomilor de carbon fiind reprezentată de *glucoza* din dietă. Glucoza este convertită pe calea glicolizei în piruvat ce intră în glicoliză sub forma acetilCoA şi a oxaloacetatului. Aceşti doi compuşi se condensează formând citratul care este transportat în citosol şi descompus la acetil-CoA ce se angajează în lipogeneză.

Excesul caloric provenit din proteinele alimentare conduce şi el la sinteza de acizi graşi, sursa fiind aminoacizii care sunt oxidaţi la acetilCoA şi intermediari ai ciclului Krebs.

Acetil-CoA reprezintă sursa de atomi de carbon pentru reacţiile care au loc sub acţiunea complexului acid gras sintază.

Conversia glucozei la acetil CoA

Are loc în citosol, glucoza urmează calea glicolitică ce converteşte glucoza la piruvat. Piruvatul pătrunde în mitocodrie, unde este convertit la acetil-CoA de către piruvatdehidrogenază şi la oxaloacetat de către piruvatcarboxilază.

Are loc apoi o reacţie de condensare între acetilCoA şi oxaloacetat cu formarea citratului ce este transportat prin membrana mitocondrială în citosol, unde este clivat de către citrat liaza în acetilCoA şi oxaloacetat, vezi fig.10.29.

Acest circuit este necesar din două raţiuni:

1. *piruvatdehidrogenaza*, enzima ce catalizează transformarea piruvatului la acetilCoA se găseşte în mitocondrie;
2. *acetil-CoA* nu poate străbate membrana mitocondrială.

NADPH-ul necesar sintezei este generat în calea pentozofosfaţilor şi prin regenerarea oxaloacetatului

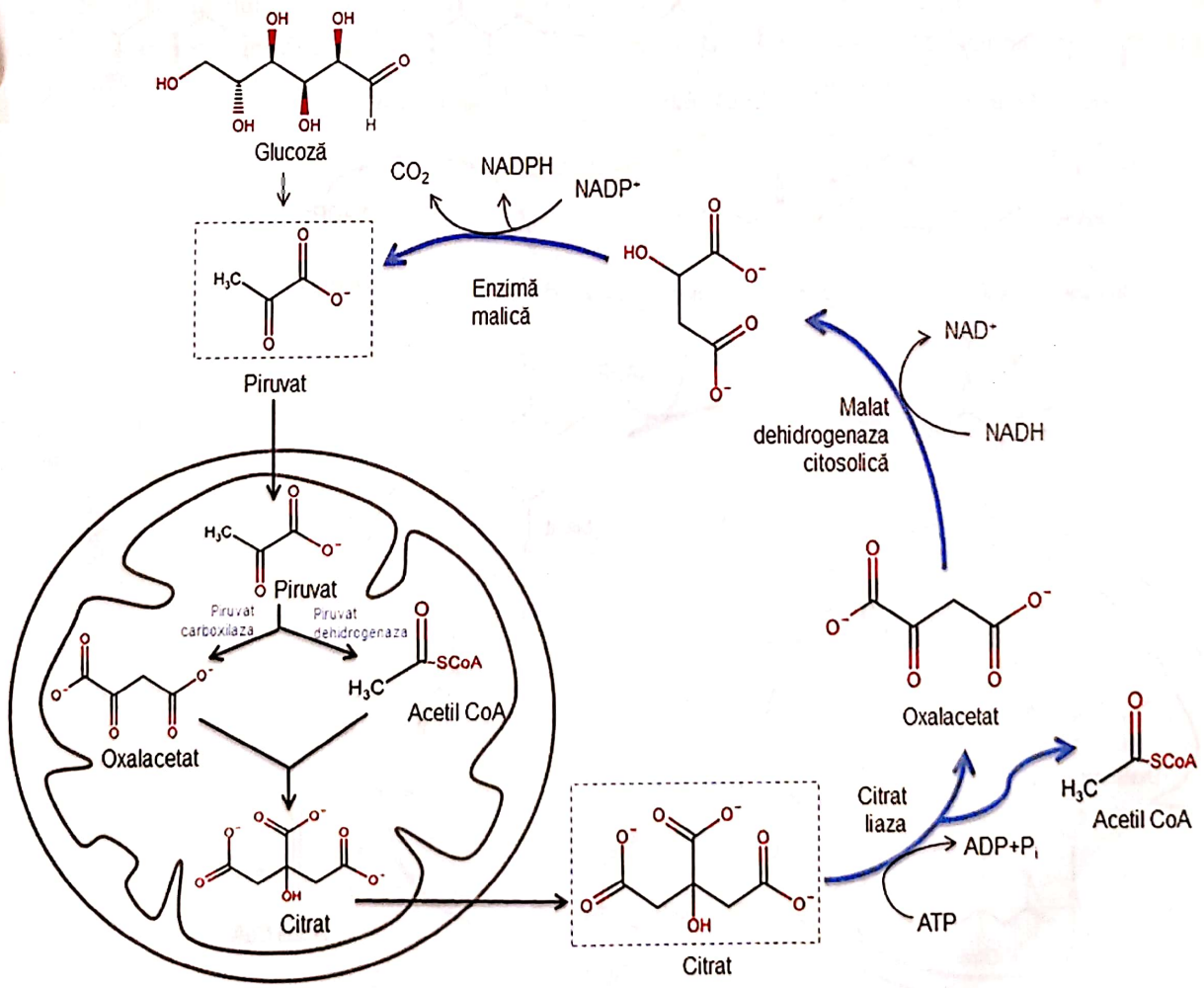


Fig. 10.30. Calea pentozofosfaţilor (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

sub acţiunea citratliazei (Fig. 10.30).

Oxaloacetatul este reconvertit înapoi la piruvat în două etape:

- reducerea oxaloacetatului la malat sub acţiunea *malatdehidrogenazei*, enzimă NAD dependentă;
- decarboxilarea oxidativă a malatului la oxaloacetat sub acţiunea *enzimei malice*, dehidrogenază NADP dependentă.

Piruvatul este reconvertit în citrat. NADPH-ul format în reacţia catalizată de enzima malică, împreună cu cel format în calea pentozofosfaţilor este utilizat în reacţiile catalizate de complexul enzimatic acid-gras sintaza (Fig. 10.31).

Formarea acetil CoA citosolice din piruvat este stimulată de raportul insulină/glucagon crescut ce activează enzime cheie precum piruvatdehidrogenaza, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza şi citrat liaza.

Conversia acetil-CoA la malonil-CoA

Este un proces care necesită obligatoriu CO_2 ce carboxilează acetil-CoA la malonil-CoA. Reacţia este catalizată de *acetil-CoA carboxilază* o enzimă care necesită biotină (Fig. 10.32).

Reacţia catalizată de acetil-CoA carboxilaza este etapa cheie de reglare a biosintezei acidului palmitic, ea dirijează acetil-CoA pe această cale metabolică. Activitatea ei este reglată hormonal prin fosforilare directă, reglare alosterică şi prin mecanism de inducţie/represie a sintezei acesteia.

Principalii factori reglatori ai acetil-CoA carboxilazei sunt (Fig. 10.33):

- citratul acumulat în citosol activează allosteric acetilCoA carboxilaza, semnalizând gradul de saturare

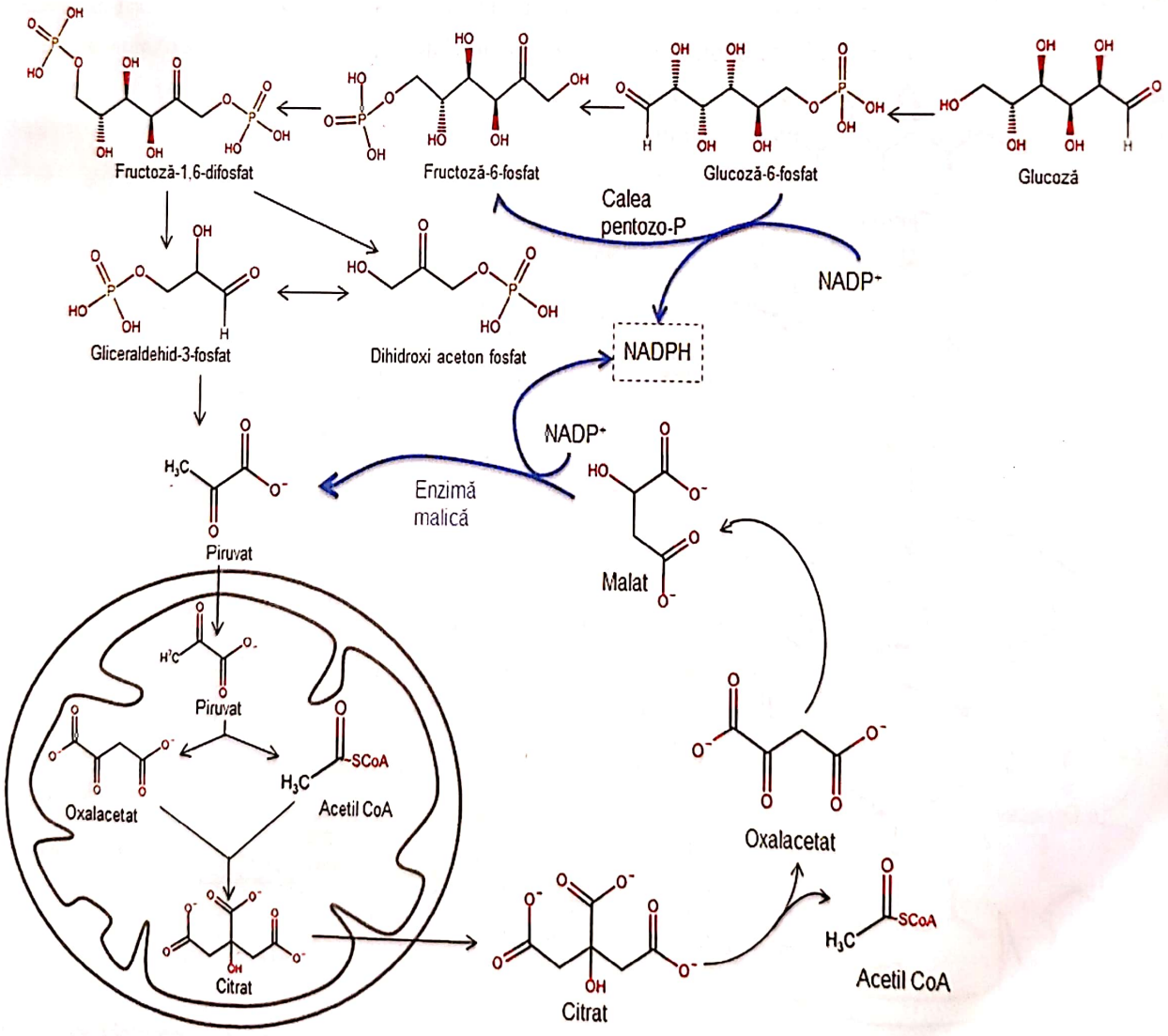


Fig. 10.31. Surse de NADPH pentru sinteza acizilor graşi (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

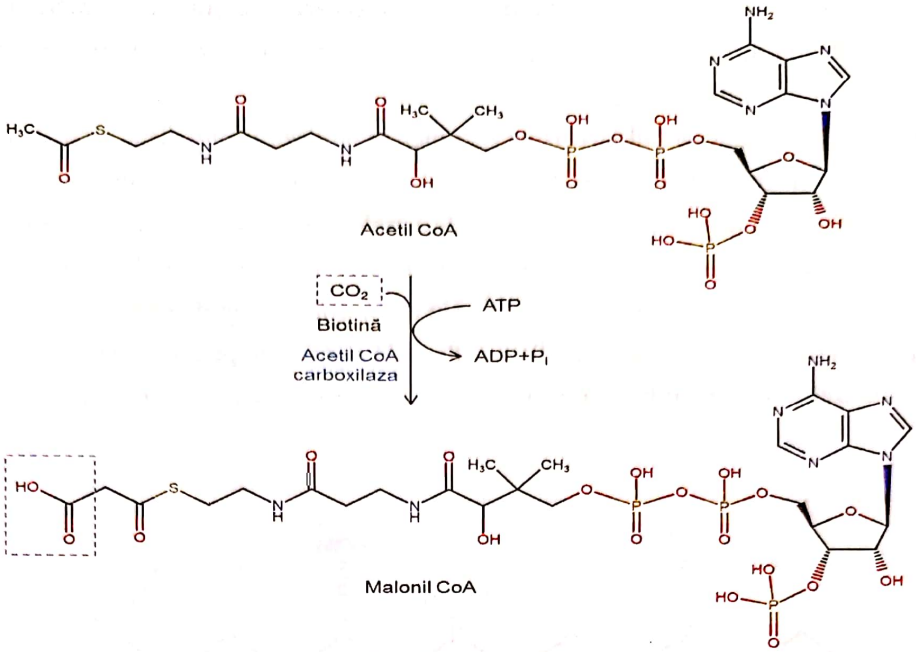


Fig. 10.32. Conversia acetil CoA la malonilCoA

cu substrat al ciclului acizilor tricarboxilici şi indirect încărcarea energetică celulară;

- palmitil-CoA şi alţi acil-CoA cu catenă lungă acţionează ca inhibitori ai enzimei, acumularea în celule a acestor metaboliţi semnalizează prezenţa unui exces de acizi graşi;

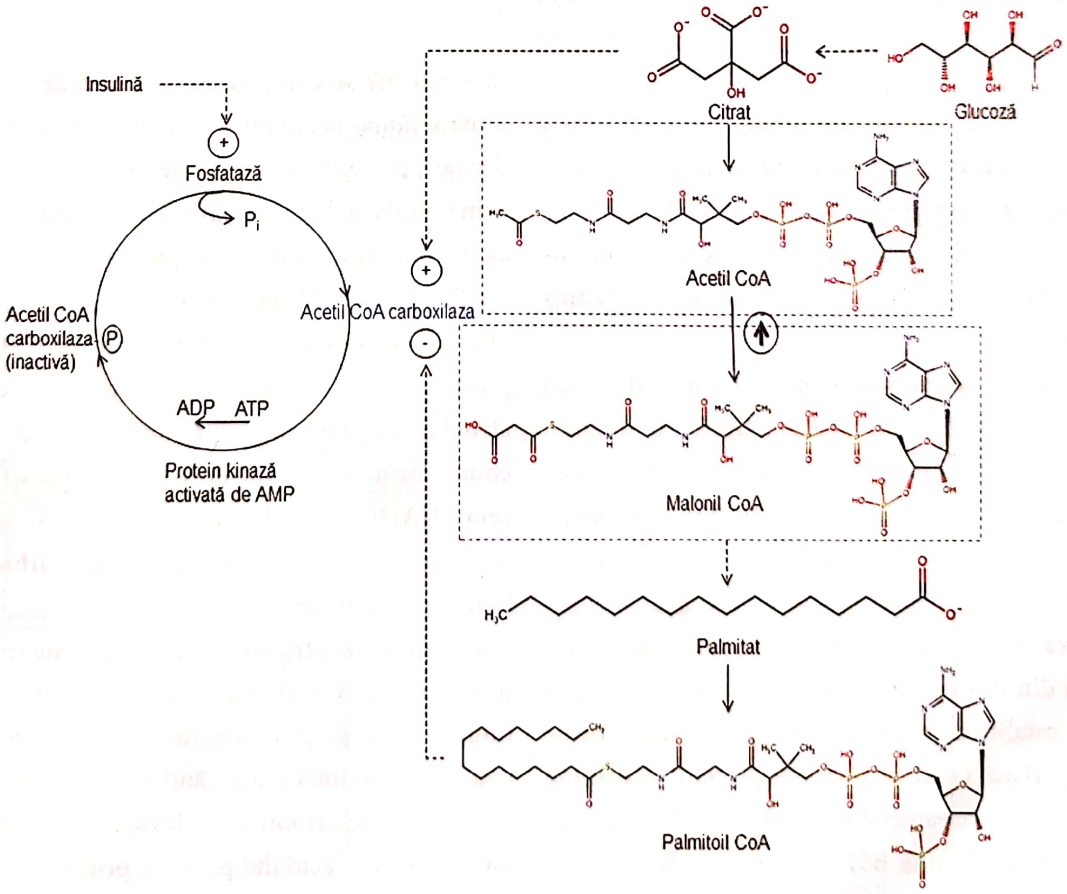


Fig. 10.33. Reglarea acetil CoA carboxilazei (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

- starea hormonală a organismului reflectată de raportul insulină/glucagon are un rol hotărâtor în modularea activităţii acetil-CoA carboxilazei. Insulina are efect activator iar glucagonul favorizează conversia enzimei în formă fosforilată mai puţin activă. Astfel, perioadele cu aport glucidic caracterizate prin raport insulina/glucagon mare, favorizează conversia glucozei în acizi graşi. Adrenalina şi noradrenalina prin creşterea concentraţiei AMPc şi activarea proteinkinazei A au efect inhibitor asupra

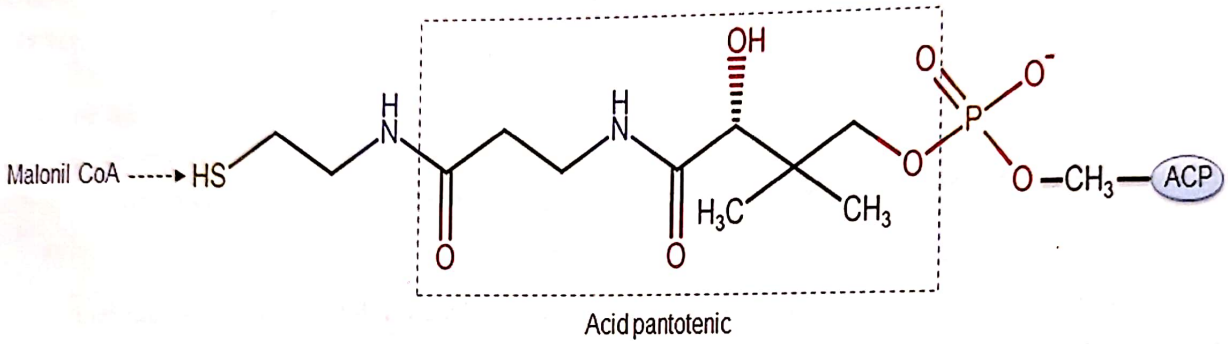


Fig. 10.34. Restul fosfopanteteină al complexului acid gras sintază (după Marks, 2005)

enzimei.

Cantitatea de enzimă în ficat este reglată de starea de nutriţie, fiind crescută în perioadele de aport glucidic şi scăzută în perioadele dintre mese.

Raportul insulină/glucagon mare determină inducţia atât a *acetil-CoA carboxilazei* cât şi a enzimei următoare, *acid gras sintaza*.

Complexul acid gras sintaza preia 2 unităţi de atomi de carbon de la malonil-CoA şi îi transferă pe lanţul de atomi de carbon ce trebuie elongat pentru a forma acidul palmitic (Fig. 10.34). După fiecare reacţie de adiţie urmează două reacţii de reducere ce necesită NADPH.

Acid gras sintaza este o enzimă multifuncţională alcătuită din doi dimeri identici, fiecare având şapte funcţii catalitice specifice şi un segment transportor de grupări acil (ACP-acyl carrier protein) ce conţine un rest de fosfopanteteină ce provine de la acidul pantotenic (vitamina B5) sau prin scindarea coenzimei A.

Complexul acid gras sintază este activ numai ca dimer. Prin asocierea celor doi monomeri într-un aranjament cap – coadă, gruparea Cys-SH a unui monomer se aliniază în imediata vecinătate a grupării Pan-SH aparţinând celuilalt monomer.

Pe o moleculă dimerică de acid gras sintază se găsesc în curs de formare două molecule de acid palmitic.

Un rest acetil din acetilCoA este transferat pe grupul Pan-SH al ACP de pe o unitate şi apoi pe gruparea Cys-SH de pe cealaltă unitate. Restul malonil din malonilCoA se ataşează restului Pan-SH al primei unitaţi, rămas acum liber şi are loc o reacţie de condensare cu restul acetil de pe gruparea Cys-SH în urma căreia se formează CO_2 şi un derivat β-cetoacil cu 4 atomi de carbon, ce este acum ataşat de gruparea Pan-SH a ACP (Fig. 10.35).

Urmează o serie de trei reacţii care reduc derivatul β-cetoacil la un alcool (β hidroxiacil), deshidratarea alcoolului cu formarea unei duble legături (derivat enoil-) urmată de reducerea dublei legături în prezenţa NADPH ca echivalent reducător şi formarea unui acid gras saturat cu 4 atomi de carbon (acid butiric) (Fig. 10.36).

Acidul gras cu patru atomi de carbon este transferat pe gruparea Cys-SH şi are loc condensarea în continuare cu un alt grup malonil. Această secvenţă de reacţii se continuă până când se formează un lanţ cu 16 atomi de carbon. Reacţia care încheie procesul este eliberarea acidului palmitic printr-o reacţie de hidroliză.

Scanned with OKEN Scanner

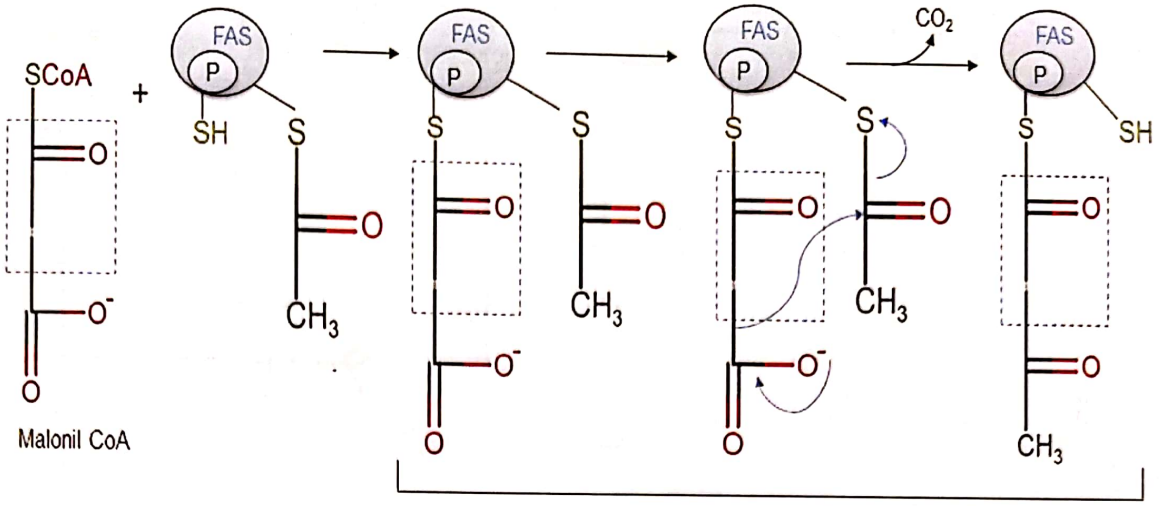


Fig. 10.35. Formarea derivatului β cetoacil (după Marks, 2005)

Acidul palmitic este mai departe elongat sau desaturat în vederea sintezei altor acizi graşi (Fig. 10.37).

Elongarea acizilor graşi

Necesită activarea acidului palmitic la palmitoil CoA. Palmitoil-CoA sau alţi acizi graşi cu lanţ lung de atomi de carbon activaţi, pot fi elongaţi cu câte doi atomi de carbon printr-o succesiune de reacţii ce au loc în reticulul endoplasmic. Malonil-CoA serveşte drept donor al celor 2 unităţi de atomi de carbon iar NADPH-ul furnizează echivalenţi reducători. O reacţie majoră de elongare are loc în organism în vederea sintezei stearil-CoA din palmitoil-CoA (Fig. 2.38)

Acidul stearic este un acid gras cu lanţ foarte lung de atomi de carbon (22-24 atomi de carbon) ce este sintetizat cu precădere în creier.

Biosinteza acizilor graşi nesaturaţi

Este un proces care necesită oxigen molecular, NADH şi citocrom b5. Reacţia are loc în reticulul endoplasmic şi constă în oxidarea celor doi acizi graşi şi a NADH, vezi fig. 10.39.

Enzimele de desaturare ce se găsesc în organismul uman pot plasa dublele legături doar între atomul de carbon 10 şi gruparea carboxil.

Acizi graşi monosaturaţi acidul palmitoleic şi oleic

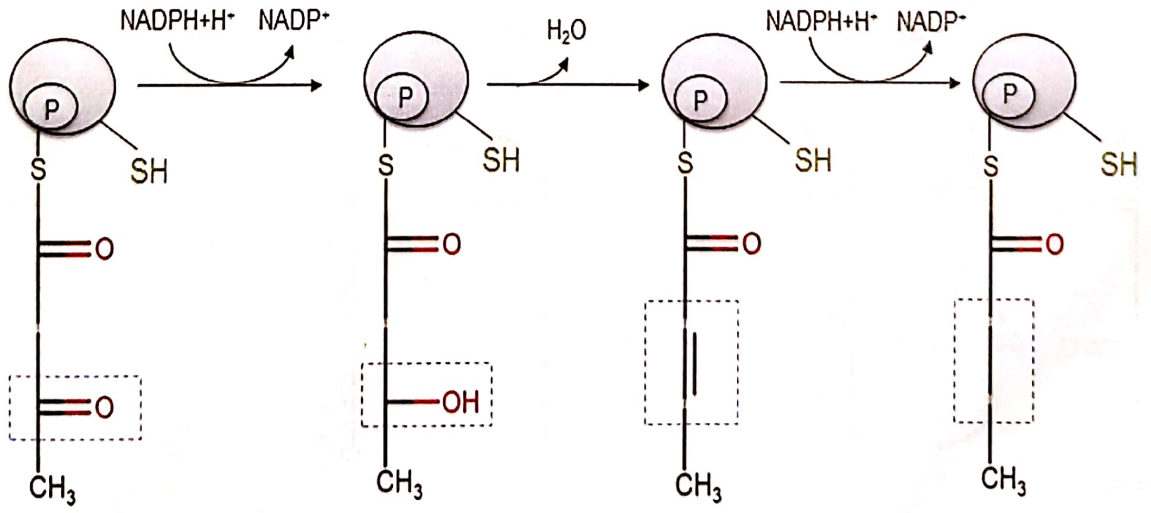


Fig. 10.36. Reducerea derivatului βcetoacil cu formarea unui acid gras cu 4 atomi de carbon (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

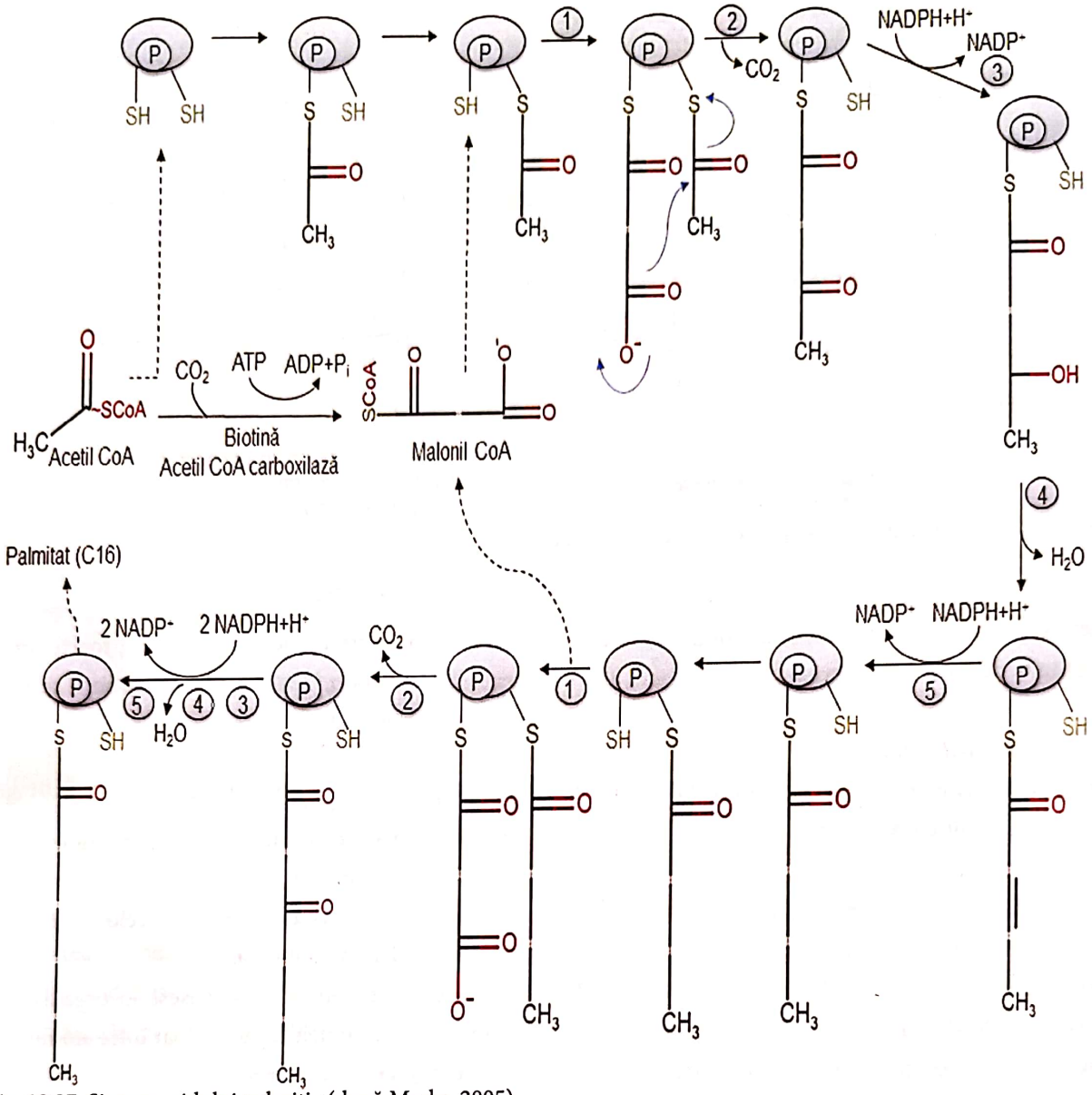


Fig. 10.37. Sinteza acidului palmitic (după Marks, 2005)

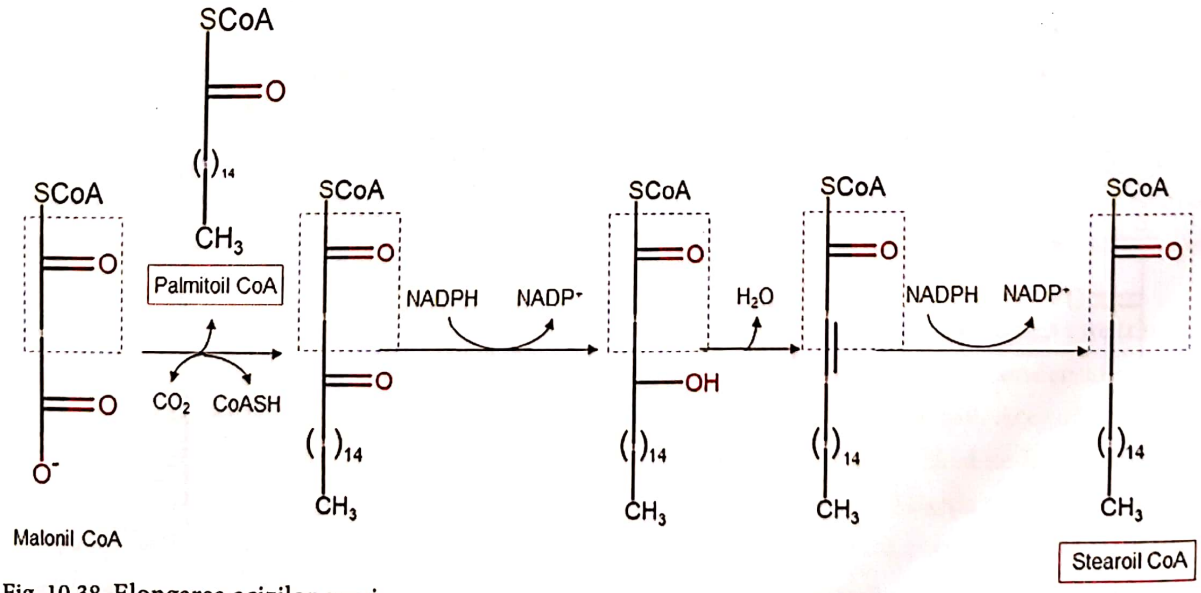


Fig. 10.38. Elongarea acizilor graşi

Scanned with OKEN Scanner

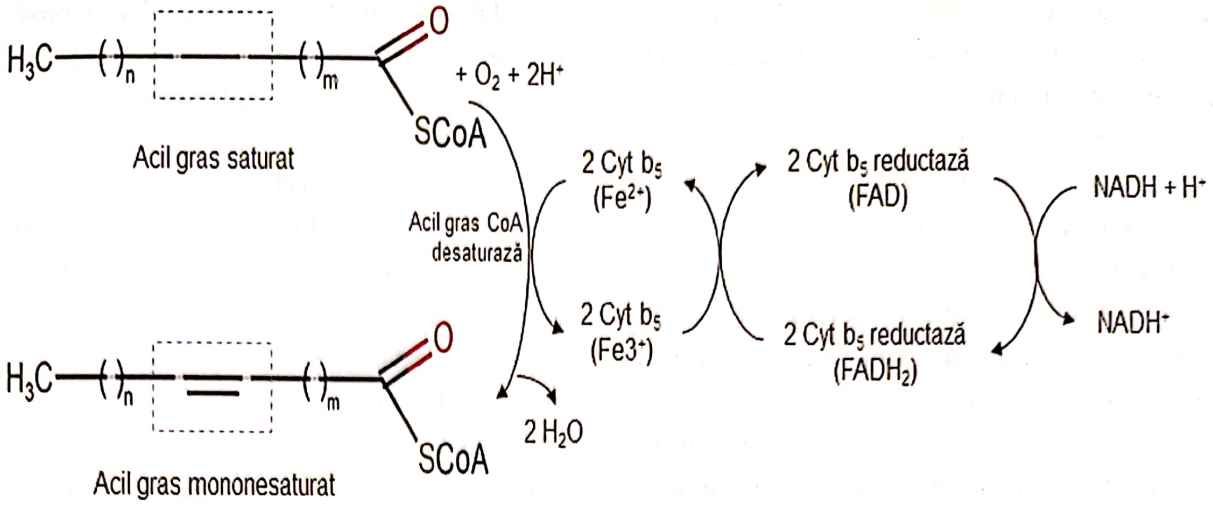


Fig. 10.39. Biosinteza acizilor graşi nesaturaţi (după Marks, 2005)

sunt obţinuţi din acizii graşi corespunzători (palmitic şi stearic).

Acest sistem de desaturare mai poate introduce o a doua dublă legătură între gruparea carboxil şi precedenta. Prin combinarea reacţiilor de elongare acidul linoleic poate fi transformat în acid arahidonic (20:4,$\Delta^{5,8,11,14}$). Sucesiunea de reacţii cuprinde: acidul linoleic din dietă este activat la linoleil-CoA, care este *desaturată* la atomul de carbon 6, elongată cu doi atomi de carbon şi apoi desaturată la atomul de carbon 5 formând arahidonil CoA, (Fig. 10.40).

Datorită faptului că în organismul mamiferelor desaturarea şi elongarea acizilor graşi se petrec numai în portiunea cuprinsă între gruparea carboxil şi dubla legătură preexistentă, se consideră că poziţia dublei legături cea mai depărtată de gruparea carboxil constituie un criteriu de clasificare mai eficient decât cel clasic.

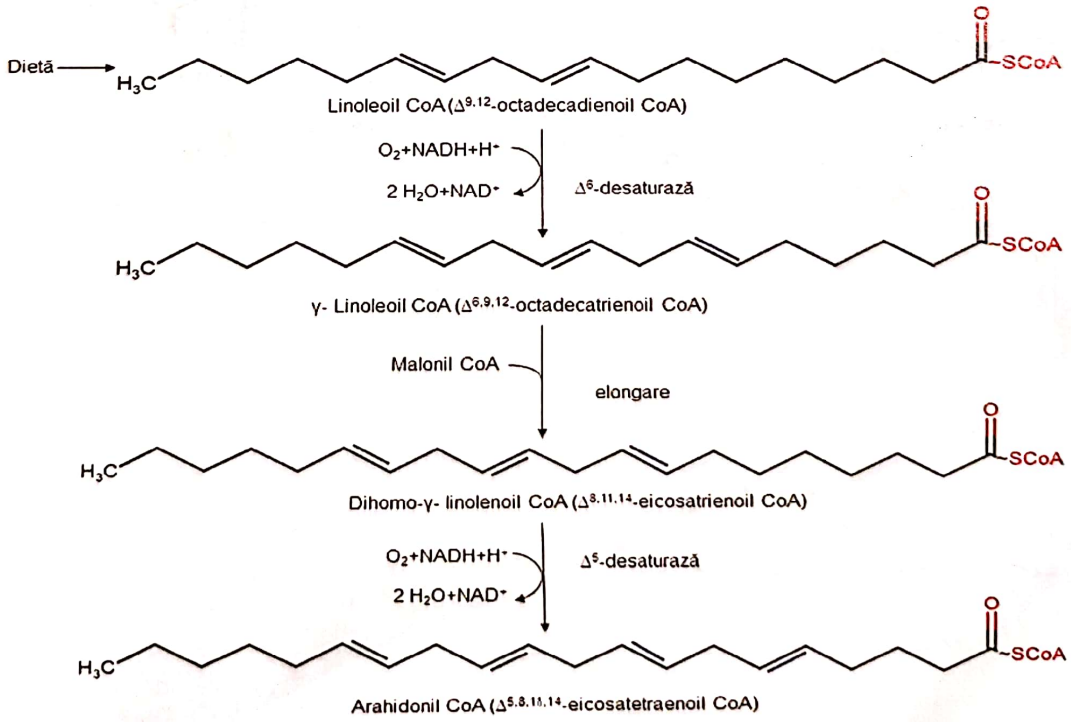


Fig. 10.40. Conversia acidului linoleic la acid arahidonic(după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Astfel dacă denumim carbonul grupării metil terminale Cω, acizii graşi nesaturaţi după poziţia dublei legături pot fi clasificaţi astfel:

- seria ω9 – acid oleic;
- seria ω6 – acid linoleic, arahidonic;
- seria ω3- acid linolenic.

Acizii graşi polinesaturaţi din seria ω6 şi ω3 sunt necesari organismului pentru sinteza de eicosanoizi. Acidul linoleic indispensabil organismului pentru sinteza de lecitine, esteri ai colesterolului sau prostaglandine, nu poate fi sintetizat în organism şi de aceea el trebuie introdus în organism prin dietă (acid gras esenţial).

Metabolismul triacilglicerolilor

Sinteza triacilglicerolilor are loc în ficat şi ţesutul adipos folosind ca intermediar acidul fosfatidic. Acidul fosfatidic este şi precursor în sinteza glicerofosfolipidelor ce intră în structura membranelor celulare şi a lipoproteinelor serice (Fig. 10.41)

Sursele de glicerol-3-fosfat, compusul ce oferă restul glicerol din structura triacilglicerolilor, sunt diferite în ficat şi ţesutul adipos.

La nivelul ficatului glicerol-3-fosfatul este produs prin fosforilarea glicerolului sub acţiunea *glicerokinazei* sau prin reducerea dihidroxiacetonfosfatului provenit din glicoliză.

Ţesutul adipos nu posedă glicerokinază şi poate produce glicerol -3-fosfatul doar din glucoză pe calea dihidroxiacetonfosfatului. Din acest motiv ţesutul adipos poate stoca acizii graşi doar atunci când glicoliza este activată, imediat postprandial.

Sinteza triacilglicerolilor în ficat şi ţesutul adipos urmează aceeaşi cale. Glicerol-3-fosfatul reacţionează cu acetil-CoA formând acidul fosfatidic. Acesta este defosforilat cu formarea diacilglicerolului. O altă moleculă de acid gras reactionează cu diacilglicerolul rezultând triacilglicerol (Fig. 10.42).

Triacilglicerolul produs în reticulul endoplasmic neted din ficat este împachetat împreună cu colesterol, fosfolipide şi proteine, pentru a forma VLDL, care sunt prelucrate la nivelul complexului Golgi şi apoi secretate în circulaţia sanguină (Fig. 10.43).

Lipoproteinlipaza ataşată de membrana bazală a celulelor endoteliale capilare, clivează triacilglicerolii conţinuţi în VLDL şi chilomicroni, eliberând acizii

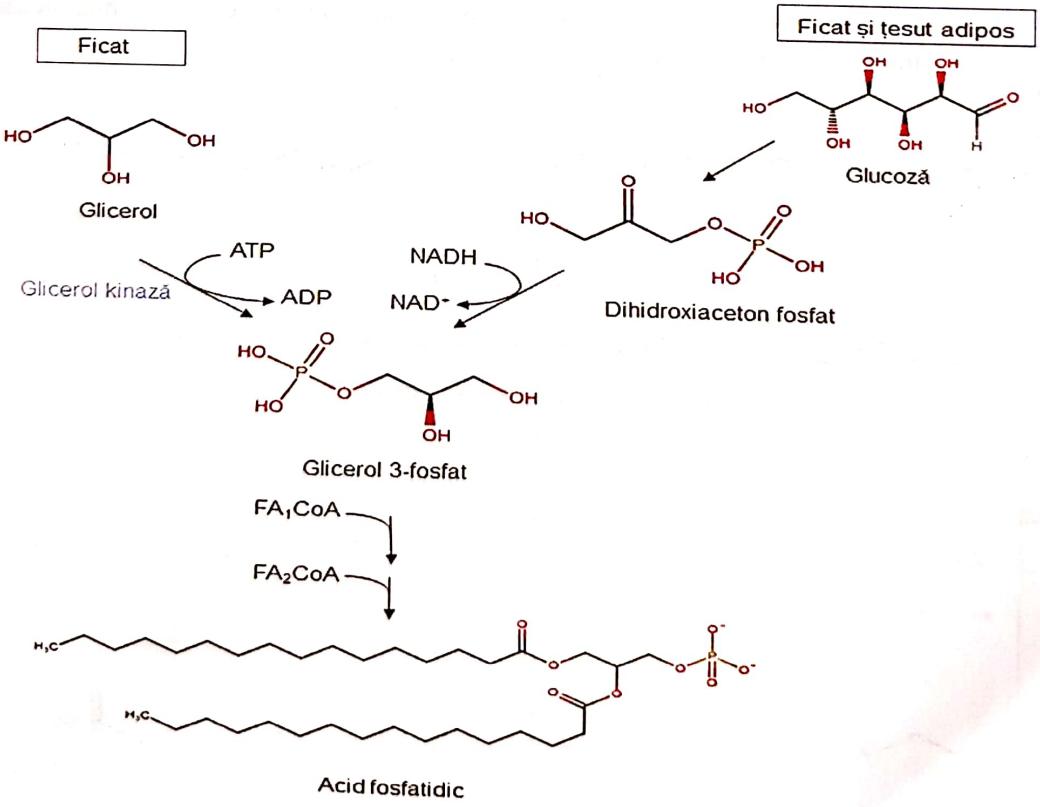


Fig. 10.41. Sinteza triacilglicerolilor prin intermediul acidului fosfatidic (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

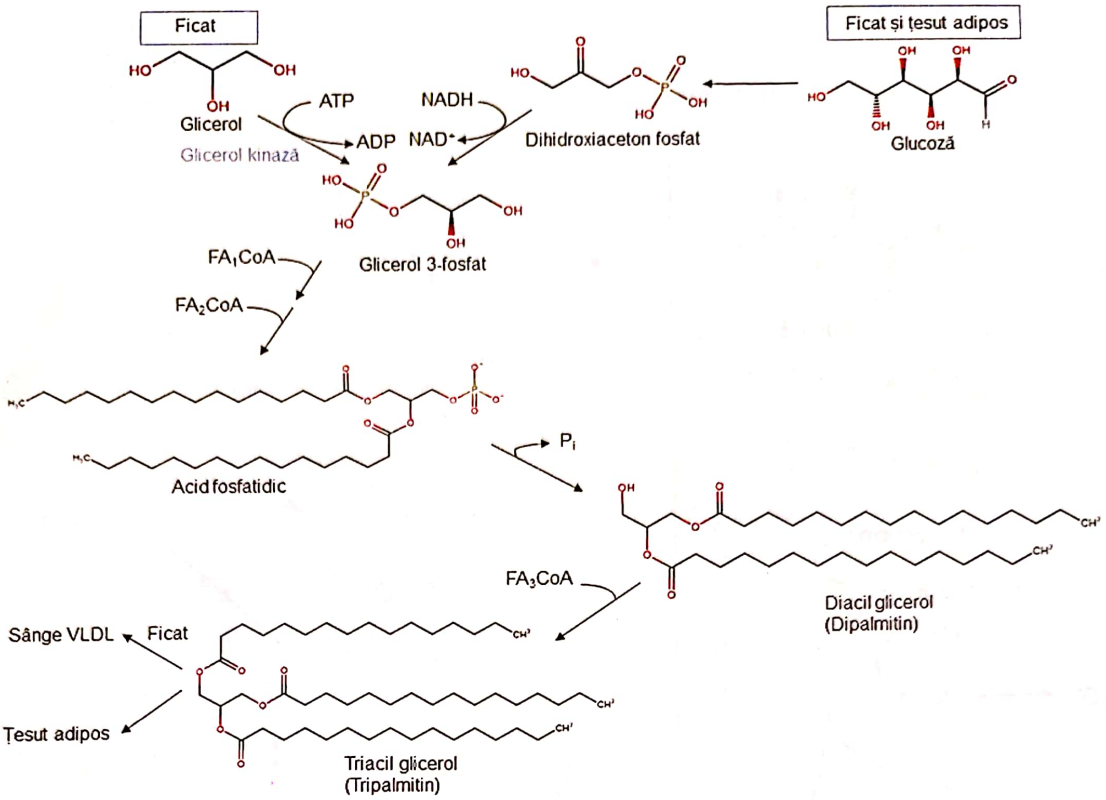


Fig. 10.42. Sinteza triacilglicerolilor în ficat și țesut adipos

grași și glicerol. Apoproteina CII, ce este transferată de pe HDL pe chilomicroni și VLDL, activează lipoproteinlipaza.

Izoenzima din mușchi având Km mic permite acestuia să folosească chilomicronii și VLDL ca sursă de energie chiar și atunci când concentrația acestora în

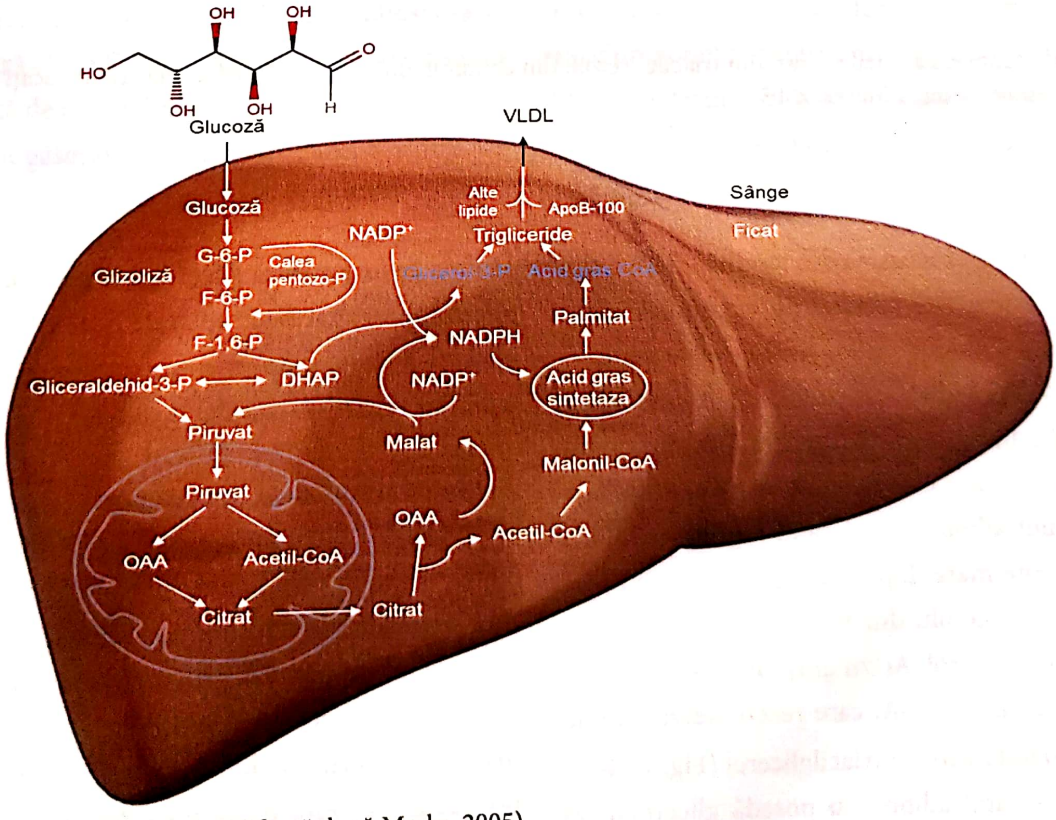


Fig. 10.43. Sinteza VLDL (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

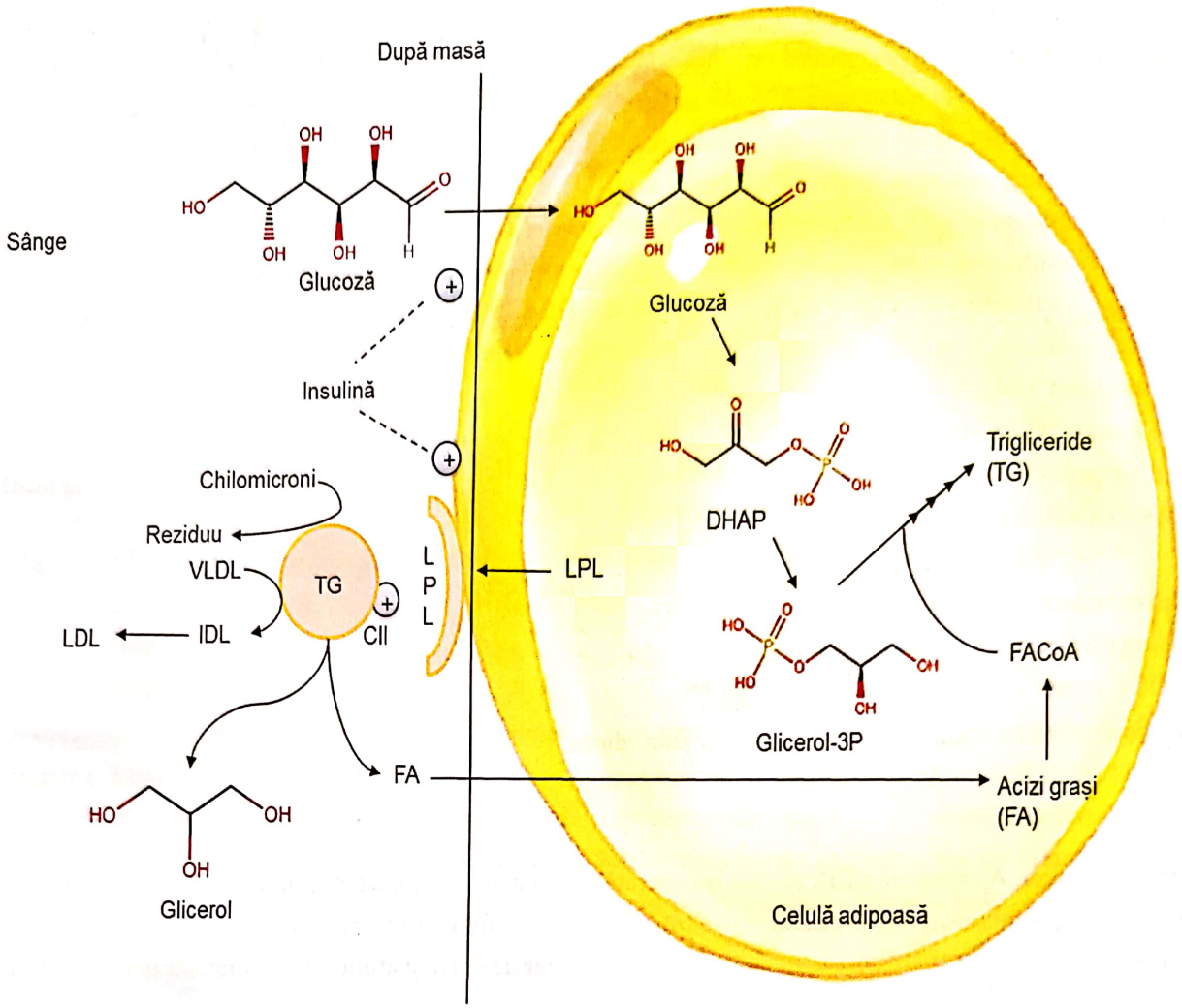


Fig. 10.44. Conversia acizilor grasi din triacilglicerolii din chilomicroni şi VLDL în triacilglicerolii stocaţi în ţesutul adipos (modificată după Marks, 2005)

sânge este mică. Izoenzima din ţesutul adipos având Km mare este activă imediat post-prandial, atunci când nivelul chilomicronilor şi VLDL este mare.

Imediat postprandial, depozitele de triacilgliceroli în ţesutul adipos cresc. Adipocitul secretă lipoproteinlipaza pe care o eliberează la nivelul capilarelor ţesutului adipos atunci când raportul insulină/glucagon este mare. Lipoprotein lipaza (LPL) scindează triacilglicerolii din VLDL şi chilomicroni în acizi graşi şi glicerol. Acizii graşi intră în adipocit şi sunt activaţi la acilCoA, care reactionează cu glicerol-3-fosfatul formând triacilglicerol (Fig. 10.44).

Deoarece ţesutul adipos nu posedă glicerokinază, enzima ce fosforilează glicerolul la glicerol-3-fosfat, glicerolul rezultat este captat de ficat şi fosforilat la glicerol-3-fosfat care este apoi utilizat în vederea unei noi sinteze de triacilgliceroli.

Reglarea lipolizei şi lipogenezei

Pe lângă stimularea sintezei triacilglicerolilor şi a secretiei de lipoproteinlipază, insulina (prin intermediul factorului de transcripţie SREBP-1c) stimulează procesul de glicoliză prin activarea unor enzime cheie precum fosfofructokinaza-1, activează defosforilarea piruvatdehidrogenazei, astfel piruvatul produs în glicoliză poate fi oxidat în ciclul Krebs,

Scanned with OKEN Scanner

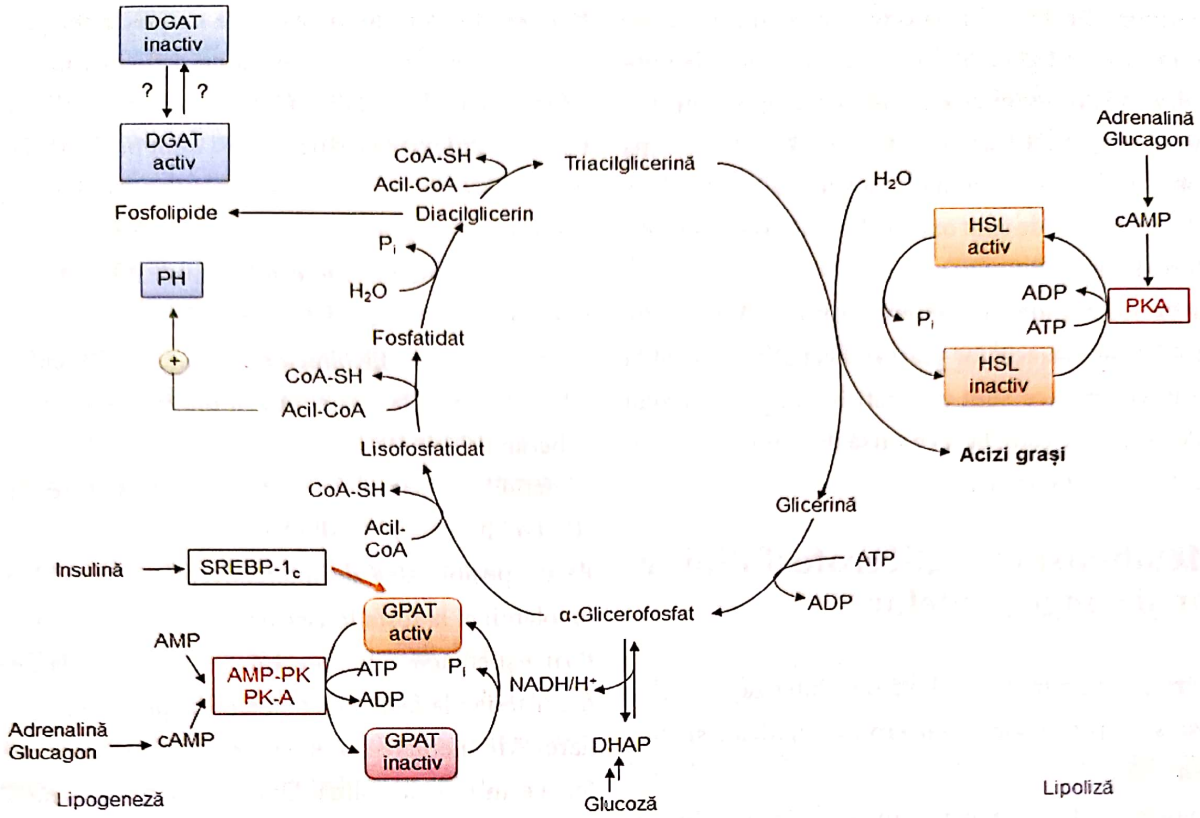


Fig. 10.45. Reglarea lipolizei si lipogenezei (dupa Petrides 2014)

stimulează conversia glucozei la acizi graşi în ţesutul adipos.

Lipogeneza este controlată de glicerolfosfat-aciltransferază (GPAT) care este promovată de insulină şi inhibată de adrenalină, glucagon şi AMP.

Lipoliza se găseşte sub controlul lipazei hormonsensibile (HSL) fiind promovată de adrenalină şi glucagon şi inhibată de insulină (Fig. 10.45).

Între mese (fasting), scăderea insulinei şi creşterea glucagonului determină creşterea nivelului de AMPc în ţesutul adipos stimulând astfel lipoliza (Fig. 10.46). Proteinkinaza A fosforilează lipaza

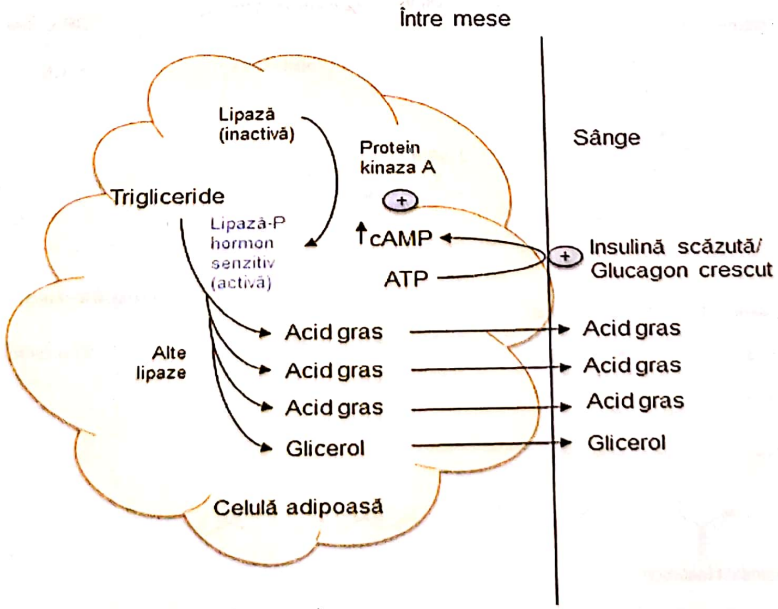


Fig. 10.46. Lipoliza (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

hormon sensibilă (forma activă) ce scindează acizii graşi formând glicerol. În urma procesului de lipoliză acizii graşi şi glicerolul sunt eliberaţi în sânge.

Acizii graşi sunt transportaţi prin sânge sub forma complexelor cu albumina, sunt captate de muşchi şi alte ţesuturi unde sunt oxidate la CO2 şi apă, cu eliberare de energie.

În perioadele de înfometare, acetil-CoA rezultată din β-oxidarea acizilor graşi în ficat şi convertită la corpi cetonici ce sunt eliberaţi în sânge, glicerolul este utilizat de către ficat ca sursă de atomi de carbon pentru gluconeogeneză.

Metabolismul glicerofosfolipidelor şi sfingolipidelor

Acizii graşi obţinuţi din dietă sau sintetizaţi din glucoză sunt precursori ai glicerofosfolipidelor şi sfingolipidelor.

Lipidele sunt componente majore ale membranei celulare precum şi a altor compuşi precum lipoproteinele serice, bila, surfactantul pulmonar. Sunt sursa acizilor graşi polinesaturaţi, în particular a acidului arahidonic ce serveşte drept precursor al eicosanoizilor.

Sinteza glicerofosfolipidelor are ca precursor glicerol-3-fosfatul ce reacţionează cu acil-CoA pentru a forma acidul fosfatidic. O particularitate a biosintezei fosfatidelor este participarea unor precursori în forme active de derivaţi ai citidin difosfatului (CDP) precum: *CDP-colină, CDP-etanolamină, CDP-diglicerid*. Acidul fosfatidic este clivat sub acţiunea unei fosfataze formând diacilglicerol.

În sinteza fosfatidilcolinelor (lecitine), CDP-colina este transferată la carbonul 3 al diacilglicerolilor cu eliberarea CMP.

Fosfatidiletanolamina este produsă printr-o reacţie similară implicând CDP-etanolamina.

Există posibilitatea de interconversie a fosfatidiletanolaminei la fosfatidilserină prin schimbul dintre serină şi etanolamină, precum si trecerea de la fosfatidilserină la fosfatidiletanolamină prin decarboxilare. Prin metilare restul de etanolamină este transformat în rest de colină. Donorul de grupări metil este S-adenozil-metionina (SAM).

Aceste glicolipide sunt componente improtante ale membranelor celulare.

A doua cale de sinteză a glicerofosfolipidelor, acidul fosfatidic reacţionează cu CTP şi formează CDP-diacilglicerol. Acesta poate reacţiona cu fosfatidilglic-

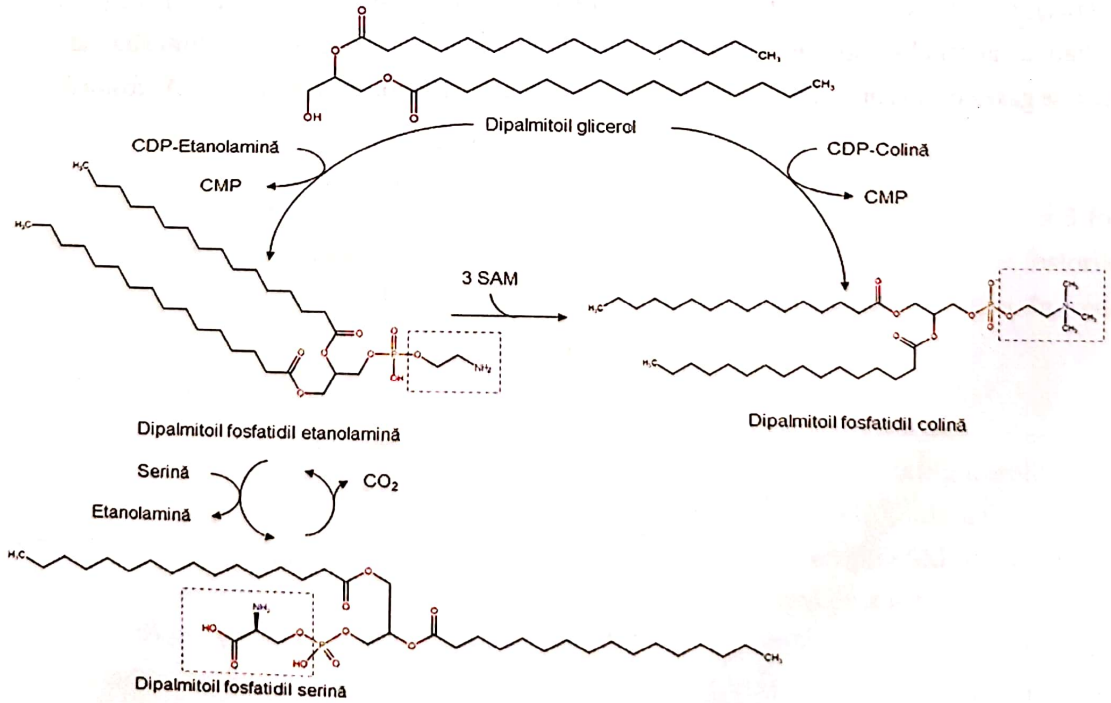


Fig. 10.47. Sinteza glicerofosfolipidelor (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

erolul şi formează cardiolipina, sau cu inozitolul şi formează fosfatidilinozitol (Fig. 10.47).

Cardiolipina este un component important al membranei mitocondriale interne. Fosfatidilinozitolul poate fi fosforilat pentru a forma fosfatidil inozitol 4,5 bis fosfat (PIP2). Acesta, în urma unui stimul, precum legarea unui hormon de receptorul său, poate fi clivat în mesageri secunzi precum DAG (diacilglicerol) şi IP3 (inozitoltrifosfat).

Degradarea glicerofosfolipidelor este realizată de fosfolipaze localizate în membrana celulară sau în lizozomi. Asupra glicerofosfolipidelor acţionează diverse fosfolipaze. Prin acţiunea secvenţială a acestor enzime fosfatidele sunt hidrolizate la acizi graşi, glicerol şi fosforilcolină.

Fosfolipaza A1 scindează acidul gras de la atomul de carbon 1 al glicerolului, fosfolipaza A2 scinează acidul gras din poziţia 2 (acesta este frecvent reprezentat de acidul arahidonic) (Fig. 10.48). Legăturile realizate la nivelul carbonului 3 sunt hidrolizate de către fosfolipaza C. Fosfolipaza C este activată hormonal, aceasta hidrolizează PIP2 şi formează mesageri secunzi precum diacilglicerol (DAG) şi inozitolfosfat (IP3). Legătura fosfat este scindată de către fosfolipaza D.

Sfingolipidele participă la comunicarea intercelulară, precum şi ca determinanţi antigenici de grup sanguin. Sinteza sfingolipidelor începe cu formarea

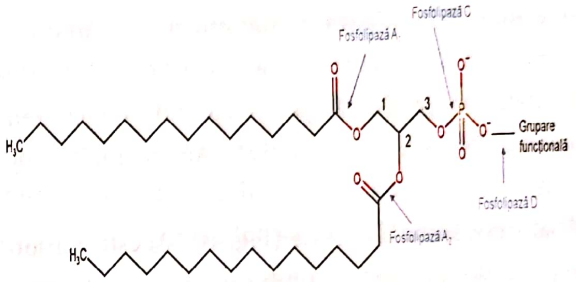


Fig. 10.48. Acţţunea fosfolipazelor (modificată după Marks, 2005)

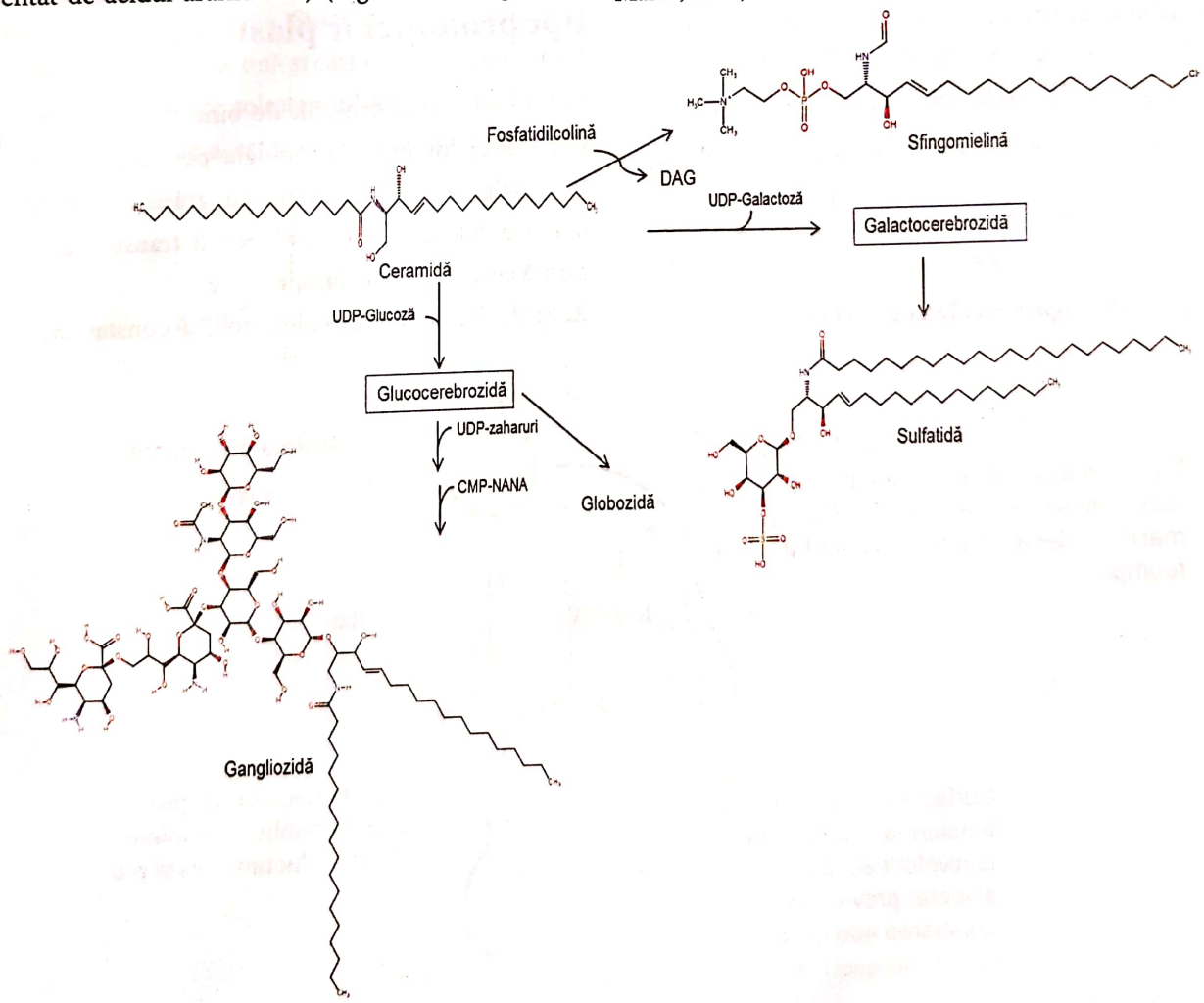


Fig. 10.49. Sinteza sfingolipidelor (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

ceramidelor. Sfingozina, componentă a sfingolipidelor este sintetizată din acid palmitic şi serină. Prin formarea unei legături amidice între acidul gras şi sfingozină se formează ceramida. Ceramida reacţionează cu fosfatidilcolina pentru a forma sfingomielina, componentă ce intră în structura tecilor de mielină. Ceramida mai reacţionează cu UDP-glucoza sau UDP-galactoza formând cerebrozide. Galactocerebrozidele ce conţin drept monozaharid galactoza, pot forma sulfatidele ce predomină la nivelul creierului. Prin adăugarea suplimentară a unui rest de monozaharid activ la ceramidă se formează globozidele, iar prin adăugarea acidului N-acetilneuraminic (NANA) se formează gangliozidele. (Fig. 10.49)

Dipalmitoilfosfatidilcolina (Fig. 10.50) este componenta majoră a surfactantului pulmonar ce contribuie în mod normal la reducerea tensiunii superficiale la nivelul alveolelor pulmonare, prevenind colabarea acestora.

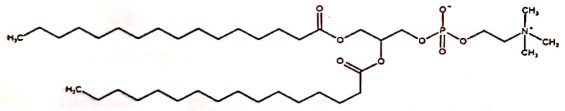


Fig. 10.50. Dipalmitoilfosfatidilcolina

Copii născuţi prematur nu sintetizează după naştere o cantitate suficientă de surfactant ceea ce determină apariţia *sindromului de detresă respiratorie.*

Constituenţii majori ai surfactantului pulmonar fiind: dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilglicerol, apoproteine şi colesterol.

Fosfatidilcolina (lecitina) este componenta majoră a surfactantului pulmonar, concentraţia acesetia creşte în săptamâna 35 de gestaţie indicând maturitatea pulmonară (Fig. 10.51). Nivelul lecitinei şi sfingomielinei în lichidul amniotic ajută la identificarea nou-născuţilor prematuri ce sunt predispuşi la sindromul de detresă respiratorie (Fig. 10.52).

Administrarea unei doze de surfactant pulmonar intratraheal la nou-nascuţii prematuri imediat după naştere poate îmbunătaţii funcţia respiratorie fara să crească însă rata de supravieţuire.

Metabolismul colesterolului şi a lipoproteinelor plasmatice

Colesterolul este deosebit de bine studiat datorită implicaţiei lui în patofiziologia peretelui vascular (ateroscleroza). În analogie cu grăsimile, insolubilitatea colesterolului face necesar transportul sub formă complexată de lipoproteine.

Rolurile fiziologice ale colesterolului constau în:

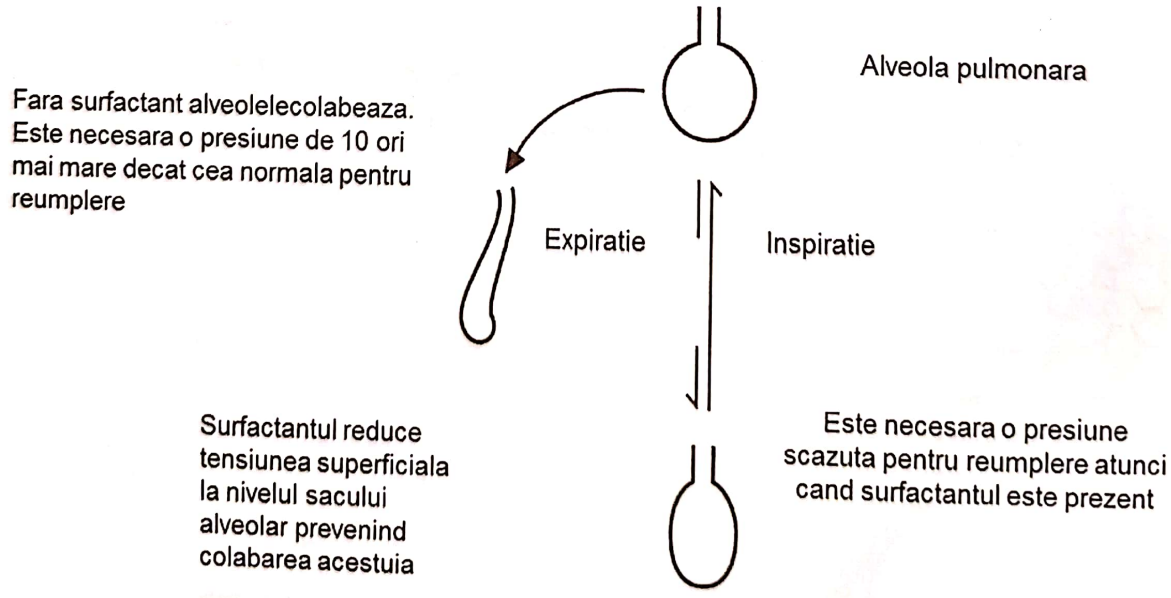


Fig. 10.51. Efectul surfactanului pulmonar (modificat după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

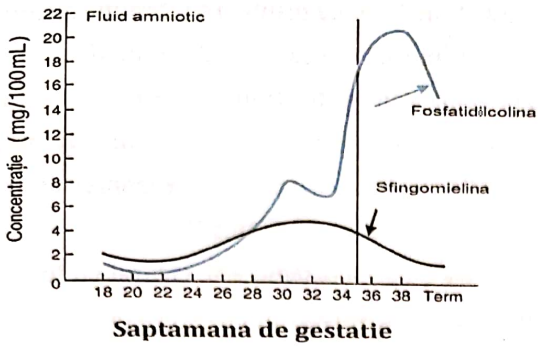


Fig. 10.52. Nivelul fosfatiduilcolinei si sfingomielinei (modificată după Marks, 2005)

- stabilizarea membranelor celulare,
- precursor în sinteza bilei,
- precursor în sinteza hormonilor steroidici,
- component al lipoproteinelor sub formă liberă sau esterificată. (chilomicroni ,VLDL).

Colesterolul poate fi sintetizat de către majoritatea celulelor organismului, dar poate fi introdus în organism şi prin alimente. Sursele alimentare majore fiind reprezentate de ouă şi carne (carnea roşie, ficat şi creier). Deoarece colesterolul nu este sintetizat în fructe şi vegetale acestea constituie dieta saracă în colesterol. Colesterolul liber şi esterificat prezent în lumenul intestinal provine din trei surse: alimentare, din bilă şi din descuamaţiile mucoasei intestinale. Esterii colesterolului sunt hidrolizaţi sub acţiunea colesterolesterazei pancreatice iar colesterolul este încorporat în micelii sub acţiunea sărurilor biliare (Fig. 10.53.).

Colesterolul împreună cu ceilalţi produşi ai digestiei lipidice, este absorbit din faza micelară şi pătrunde în eritocite. Intestinul are capacitate redusă de absorbţie a colesterolului exogen, numai o mică parte din acesta fiind absorbit.

Transportul din enterocite în sânge este realizat de către o familie de transportori specifici ABC_1, $ABCG_5$ şi $ABCG_8$ (ABC = ATP-Binding-Casette) şi necesită energie sub formă de ATP. Împreună cu alţi componenţi, colesterolul este încorporat în chilomicroni, lipoproteine ce sunt secretate de vasele limfatice care drenează întestinul şi via canalul toracic ajung în circulaţia sanguină.

Colesterolul poate fi sintetizat şi în organism (endogen). Precursorul sintezei de colesterol este acetil-

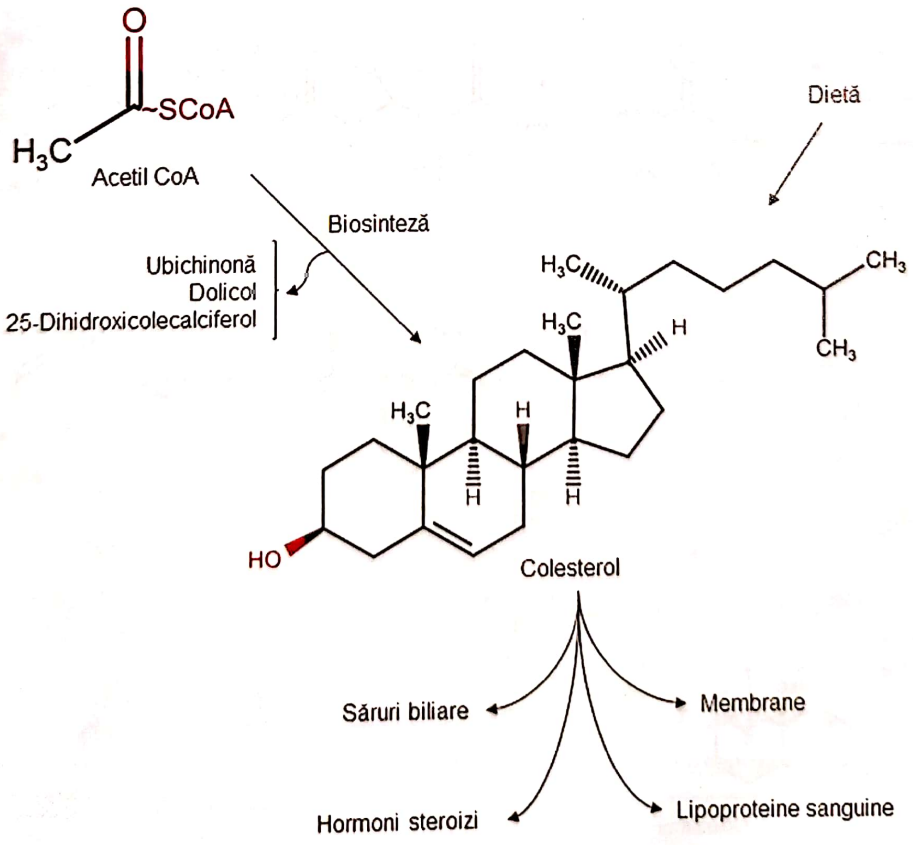


Fig. 10.53. Rolul colesterolului (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

CoA citosolică, aceasta fiind produsă din glucoză și acizi grași în mitocondrie. O altă sursă este reprezentată de catabolismul aminoacizilor. Acetil-CoA iese din mitocondrie în citosol prin transformare în citrat, în citosol citratul fiind clivat cu formarea oxaloacetatului și acetil-CoA.

Calea de sinteză a colesterolului se desfășoară în trei faze.

1. Prima fază a sintezei colesterolului constă dintr-o succesiune de reacții prin care două molecule de acetilCoA se condensează cu formarea acetoacetil-CoA, care mai departe prin condensarea cu încă o moleculă de acetilCoA formează mevalonatul (Fig. 10.54).

Reacția este catalizată de *hidroxi-metil-glutaril CoA reductaza*, enzimă ce are drept inhibitor negativ colesterolul. Această etapă este o etapă cheie în sinteza colesterolului.

Există două fonduri metabolice de HMG-CoA, unul mitocodrial care duce la corpi cetonici (deoarece sinteza acestora are loc în mitocondrie) și altul în citoplasmă ce este utilizat în sinteza steroizilor.

2. În a doua etapă a sintezei colesterolului, HMG-CoA este transformată printr-o succesiune de reacții în scualen (hidrocarbură cu 30 de atomi de carbon). Acestă etapă consta din transformarea HMG-CoA în unități de izopren activ (alcatuit din 5 atomi de carbon) și condensarea unităților de izopren activ cu formarea scualenului, (Fig. 10.55).

3. În a treia etapă scualenul este ciclizat cu formarea lanosterolului, acesta fiind apoi convertit printr-o serie de reacții, la colesterol. (Fig. 10.56).

Izoprenul activ există în două forme izomere, dimetil-alil-pirofosfat și izopentenil pirofosfat. Unitățile de izopren activ fiind precursori nu numai în sinteza colesterolului dar și în sinteza dolicolului și ubiquinonei.

Reglarea sintezei colesterolului are loc la trei niveluri:

A. La nivel transcripțional - HMG-CoA reductaza localizată în membrana reticulului endoplasmic este controlată de SREBP (Sterol Regulatory Element Binding Protein). Acesta activează sinteza a peste 30 de gene implicate în sinteza colesterolului prin legare la SRE (*Sterol regulatory Element*).

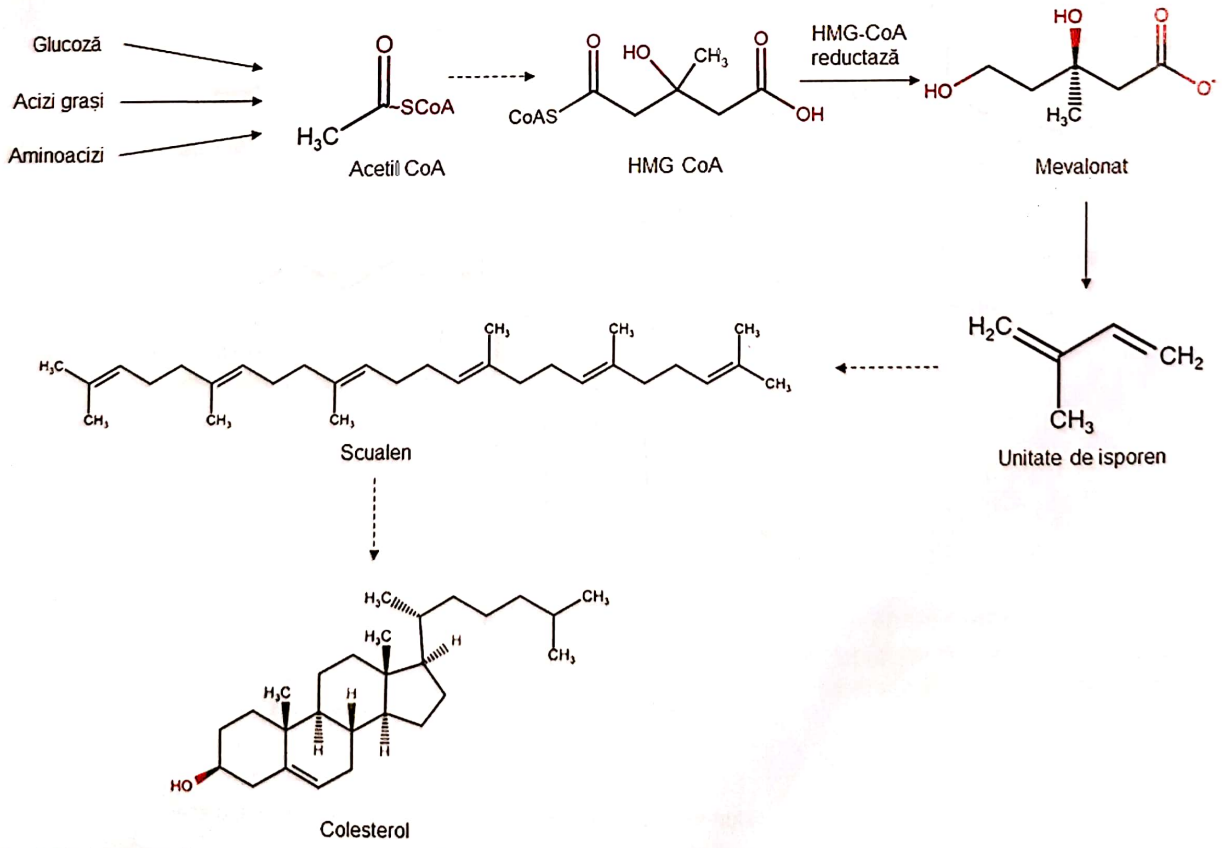


Fig. 10.54. Prima fază a sintezei colesterolului

Scanned with OKEN Scanner

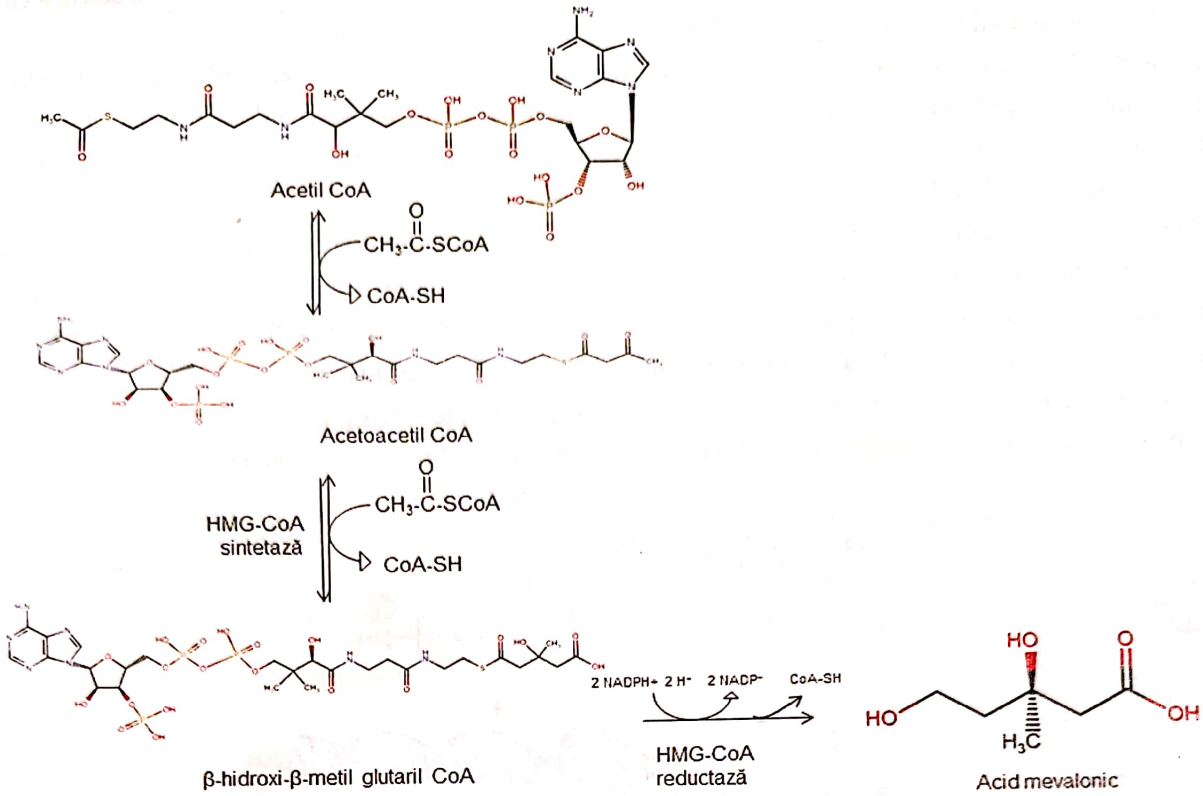


Fig. 10.55. Sinteza acidului mevalonic

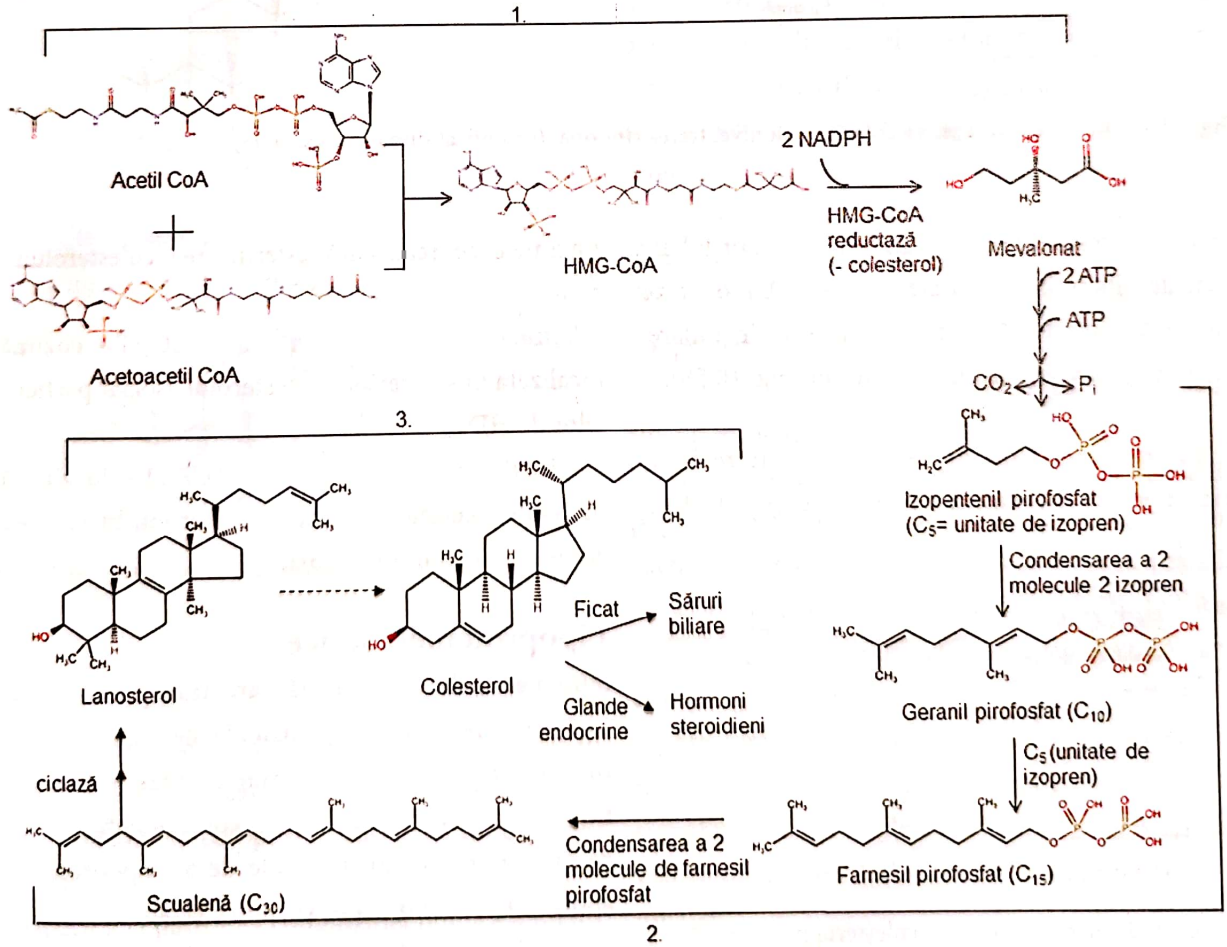


Fig. 10.56. Etapele sintezei colesterolului (modificat după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

SREBP este localizat în membrana reticulului endoplasmic și este eliberat prin acțiunea a două proteaze: SCAP (*SREBP Cleavage-Activating Protein*) și S2p (*Site 2 protease*), vezi figura 10.57.

B. Activitatea HMG-CoA reductazei, enzimă localizată în reticulul endoplasmic, este un alt punct cheie în sinteza colesterolului. Sinteza colesterolului este controlată în majoritatea țesuturilor printr-un mecanism de feedback, în care produsul final al sintezei (colesterolul) este inhibitor al sintezei HMG-CoA reductazei. Ficatul prezintă o rată de sinteză a colesterolului mai mare decât a celorlalte țesuturi

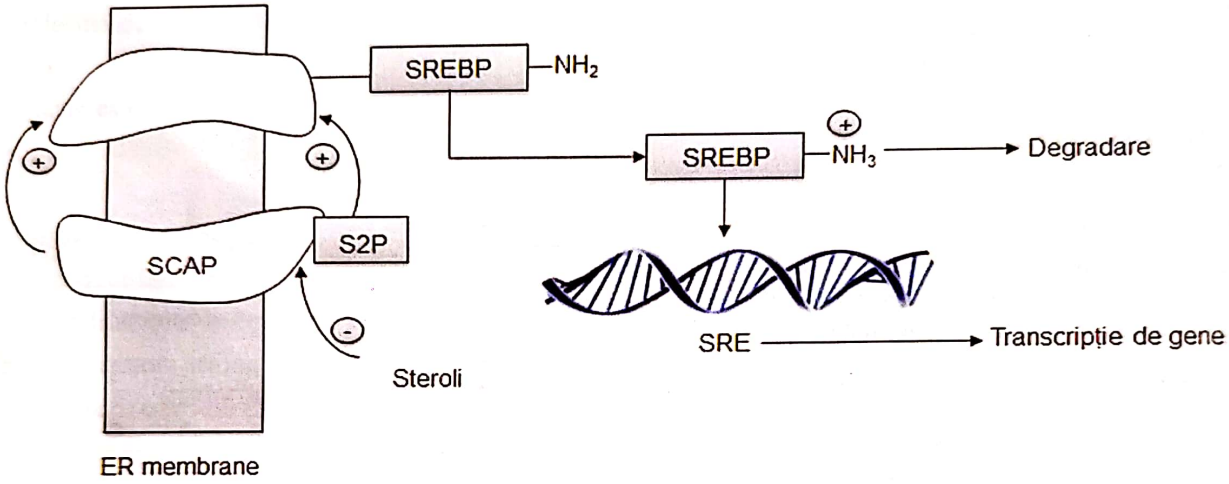


Fig. 10.57. Reglarea sintezei de colesterol la nivel transcripțional (modificat după Marks, 2005)

deoarece acesta servește la sinteza sărurilor biliare. Sărurile biliare inhibă și ele HMG-CoA reductazei alături de colesterol prin proteoliza și degradarea enzimei, proces intensificat de steroli (Fig. 10.58).

C. Stimularea sau inhibarea enzimei este realizată prin modificări covalente, fosforilare și defosforilare, forma defosfo reprezentând forma activă a enzimei, (vezi fig. 10.59).

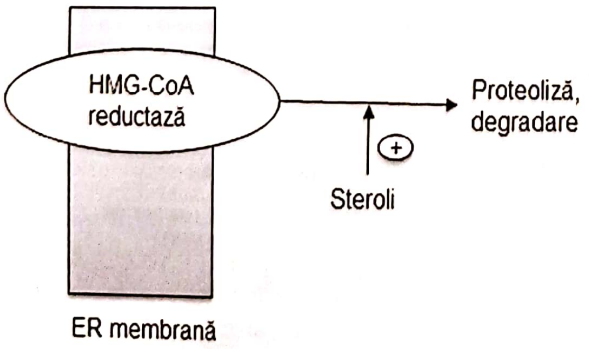


Fig. 10.58. Reglarea sintezei de colesterol prin activitatea HMG-CoA reductazei (modificat după Marks, 2005)

AMPc, glucagonul, steroizii la niveluri crescute fosforilează enzima inactivând-o, insulina, hormonii tiroidieni promovează forma defosfo (activă) a enzimei.

Esterificarea colesterolului cu acizii grași poate fi realizată la nivelul grupării hidroxil realizând esteri ai colesterolului (Fig. 10.60). Esterificarea colesterolului conferă acestuia un caracter hidrofob, putând fi astfel mai ușor încorporat în structura lipoproteinelor, la nivelul citoplasmei celulare.

Enzimele ce realizează esterificarea colesterolului sunt:

- *lecitin:colesterol acil transferaza* (LCAT)- enzimă localizată în și esterifică colesterolul asociat particulelor de HDL;
- *acil:colesterol aciltransferaza* (ACAT) – localizată în celule, aceasta stochează colesterolul în vederea sintezei hormonilor steroizi.

Lipoproteinele serice

Sunt particule din plasmă care transportă lipide, inclusiv colesterol. Sunt particule sferice cu nucleu hidrofob format din trigliceride și colesterol esterificat, la exterior prezentând o componentă proteică (apolipoproteine). Exemple de apolipoproteine: apoB (B48 și B100), apo AI , apo CII, apoE.

Pe lângă funcția de transport a trigliceridelor, lipoproteinele plasmatice îndeplinesc o serie de alte ro-

Scanned with OKEN Scanner

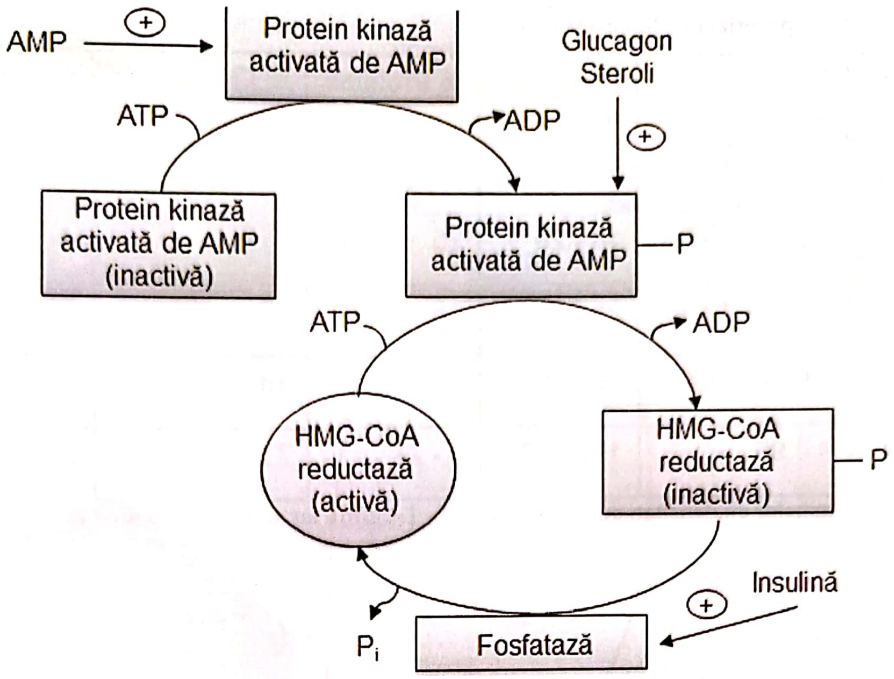


Fig. 10.59. Stimularea şi inhibarea enzimei (modificat după Marks, 2005)

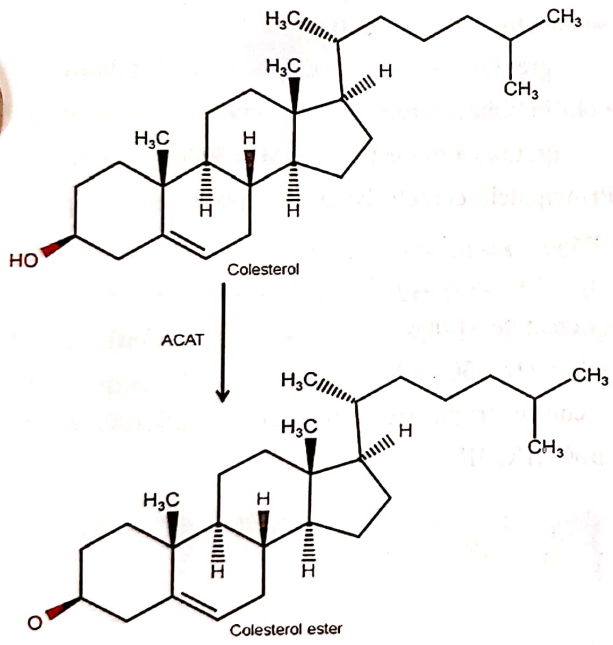


Fig. 10.60. Esterificarea colesterolului

luri:

- transportă colesterolul exogen şi cel sintetizat în ficat spre ţesuturile extrahepatice şi invers,
- vehiculează alţi compuşi lipidici (vitamine liposolubile);
- participă la păstrarea compoziţiei lipidice a membranelor;
- reglează procese metabolice celulare.

Lipoproteinele pot fi separate prin electroforeză şi ultracentrifugare (Tabel 10.1.). Astfel, în funcţie de densitate şi mobilitate electroforetică, lipoproteinele (Fig. 10.61) se clasifică în:

- chilomicroni – care nu migrează în câmp electroforetic;
- lipoproteine cu densitate foarte mică (VLDL – very low density lipoproteins);
- lipoproteine cu densitate mică (LDL – low density lipoproteins);
- lipoproteine cu densitate mare (HDL – high density lipoproteins);

Apolipoproteinele sunt componente majore ale lipoproteinelor, se mai numesc şi aproteine. Clasificarea lor se face în ordine alfabetică: A,B,C până la G, la care se adaugă literele romane (I,II,III etc.) acestea reprezentând ordinea lor de separare pe coloana cromatografică.

Aceste componente funcţionează ca ligand pentru receptorii celulari specifici, fiind astfel recunoscute şi captate de către celule în vederea metabolizării lor. Principalele caracteristici ale apolipoproteinelor umane:

- A-I - principala proteină din HDL;

Scanned with OKEN Scanner

Tabel 10.1.Compoziția și proprietățile lipoproteinelor

Lipoproteine, clasa	Densitate (g/mL)	Diametru (nm)	% Proteine	% Fosfolipid	% Triacilglicerol
HDL	1.063 – 1.21	5 - 15	33	29	8
LDL	1.019 – 1.063	18 - 28	25	21	4
IDL	1.006 – 1.019	25-50	18	22	31
VLDL	0.95 – 1.006	30 - 80	10	18	50
chilomicroni	< 0.95	100 - 500	1 - 2	7	84

Notă: Majoritatea proteinelor au densități cuprinse între 1.3 - 1.4 g/mL iar agregatele lipidice au densități de aproximativ 0.8 g/mL

- conc. plasmatică: 90 –120 mg%;

Notă: Majoritatea proteinelor au densități cuprinse între 1.3 - 1.4 g/mL iar agregatele lipidice au densități de aproximativ 0.8 g/mL

- greutatea moleculară: GM = 28 300 daltoni.

• A-II - se găsește sub formă de dimer în principal în HDL;

- conc. plasmatică: 30 – 50 mg %;
- greutatea moleculara: GM = 8700 daltoni.

• B-48 - se găsește numai în chilomicroni;

- conc. plasmatică: <5 mg %
- greutatea moleculară: GM ≅ 240 000 daltoni.

• B-100 - principala proteină din LDL, se leagă de receptorul celular pentru LDL;

- conc. plasmatică: 80 –100 mg %;
- greutatea moleculară: GM = 500 000 daltoni.

• C-I - în chilomicroni, VLDL, HDL;

- conc. plasmatică: 4 – 7 mg %;
- greutatea moleculara: GM = 7000 daltoni.

• C-II - în chilomicroni, VLDL, HDL;

- conc. plasmatică: 3 – 8 mg %;
- greutatea moleculară: GM = 8800 daltoni

• C-III - în chilomicroni, VLDL, IDL, HDL;

- conc. plasmatică: 8 - 15 mg %;
- greutatea moleculară: GM=8800 daltoni

• D - în HDL

- conc. plasmatică:8 – 10 mg %;
- greutatea moleculară: GM = 32500 daltoni.

• E - în chilomicroni, VLDL, IDL HDL, se leagă de receptorul celular pentru LDL

- conc. plasmatică: 3 – 6 mg %;
- greutatea moleculară: GM = 34100 daltoni.

• H - în chilomicroni;

- greutatea moleculară: GM = 50000 daltoni.

Principalele caracteristici ale lipoproteinelor plasmatice:

VLDL(very low density lipoproteins)

– densitate >1.006

– diametru: 30 - 80nm

– conțin trigliceride endogene, apoB-100, apoE, apoC-II/C-III

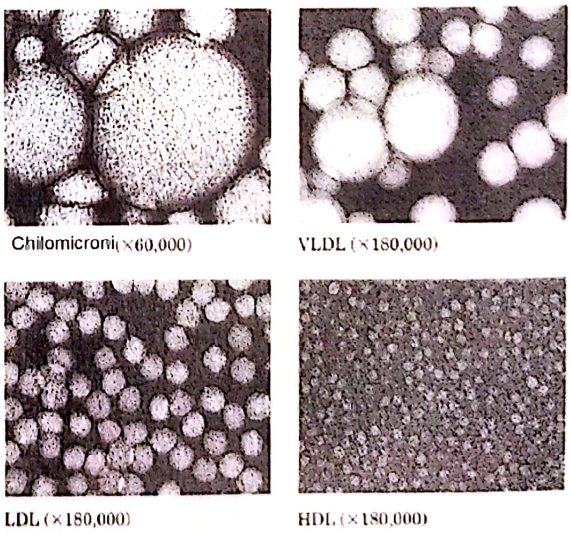


Fig. 10.61. Lipoproteine microscopie

Scanned with OKEN Scanner

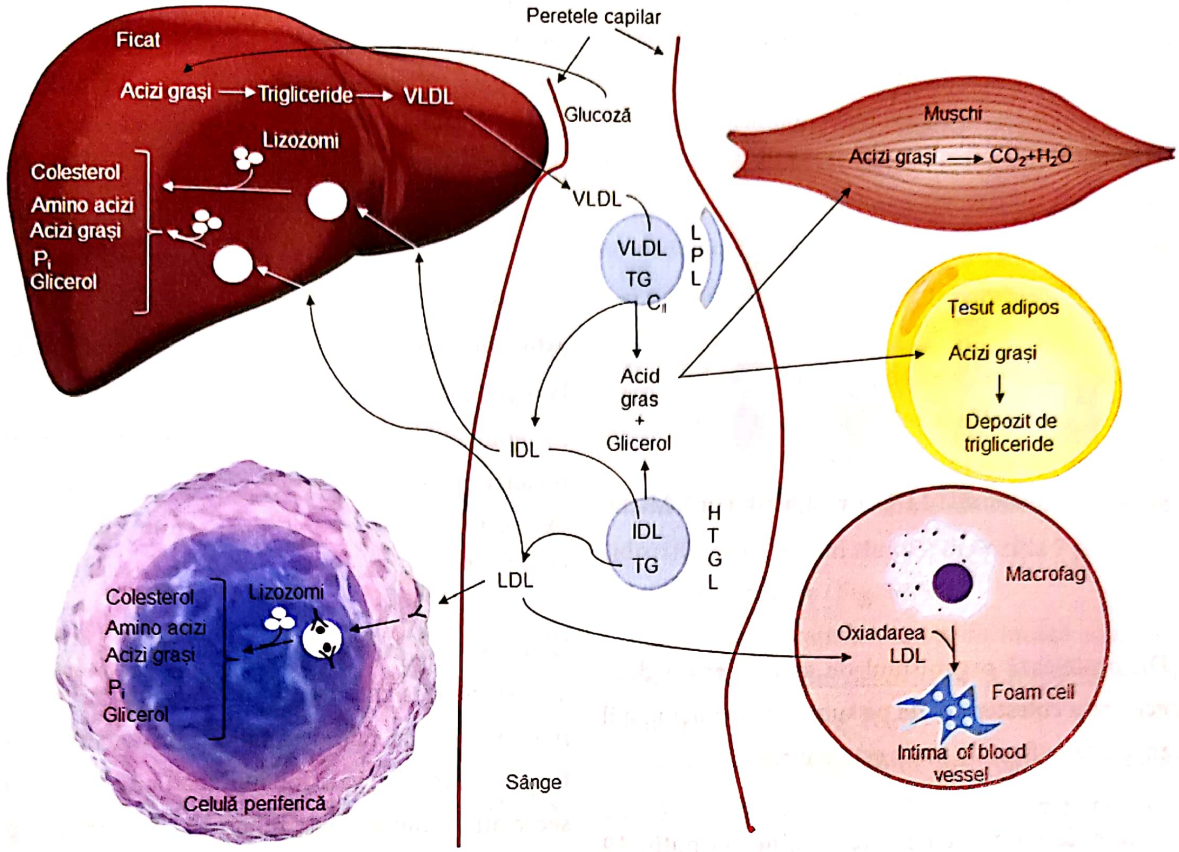


Fig. 10.62. Metabolismul general al lipoproteinelor (modificată după Marks, 2005)

– se formează în ficat ca VLDL emergent si sunt eliberate în circulaţia sanguină. De aici sunt preluate de ţesuturi (muşchi, ţesut adipos) unde sunt degradate sub acţiunea LPL (Fig. 10.62).

IDL (intermediate density lipoproteins)

– densitate: 1.006 - 1.019

– diametru: 25 - 35nm

– Compoziţie: esteri de colesterol, trigliceride, apoB-100, apoE, apoC-II/C-III.

O parte din VLDL este transformată în IDL ce pătrund la nivelul hepatocitului unde sunt descompuse în elementele componente sau sunt degradate sub actiunea HTGL (triacilglicerollipaza hepatica) la LDL

LDL (low density lipoproteins)

– densitate: 1.019 - 1.063

– diametru: 18-25nm

– Compoziţie: esteri de colesterol, apoB-100 (Fig. 10.63, 10.64)

HDL (high density lipoproteins)

– densitate: 1.063-1.210

– diametru: 5-12nm

– Compoziţie: esteri de colesterol, fosfolipide, apoA-I, apoA-II, apoC-II/C-III and apoE.

Este sintetizat în forma născanda în ficat şi intestin. După secretia lui în sange se degradează prin interacţiunea cu chilomicronii şi VLDL cu care realizează un schimb de lipide şi proteine (Fig. 10.65).

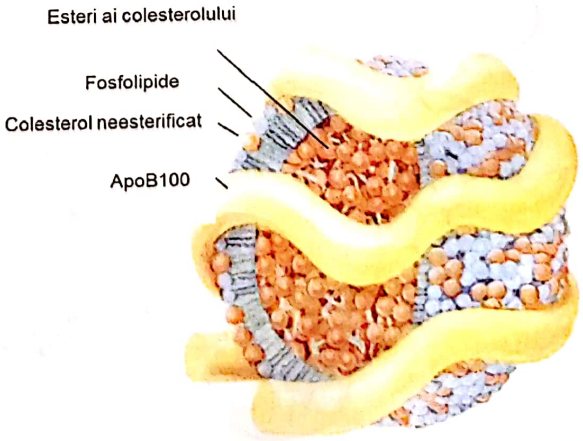


Fig. 10.63. Structura LDL (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

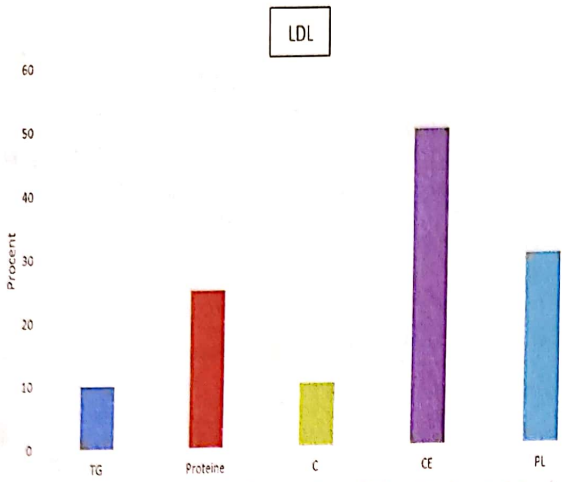


Fig. 10.64. Compoziția LDL (modificată după Marks, 2005)

HDL protejează organismul de ateroscleroza deoarece preia colesterolul de pe suprafața celulelor și îl transporta la ficat de unde este recirculat

Lipoproteinele (a)- Lp(a)

- familie de lipoproteine care conține cel putin 19 alele diferite, cu potențial aterogen
- Compoziție: o particula de LDL și o proteină (a)
- apoA este legată covalent de apoB-100 printr-o punte disulfidică
- sunt asociate cu boli cardiovasculare și accidente cerebrale.

Dintre receptorii lipoproteinelor, cel mai bine caracterizat este receptorul LDL. Acesta a fost caracterizat de Michael Brown si Joseph Goldstein (câștigători ai premiului Nobel în 1985), în urma cercetărilor pe colective cu istorie de hipercolesterolemie.

Receptorul recunoaște partea proteică B/E, formând astfel complexe atât cu apoB și apoE, fiind localizat la nivelul ficatului.

Receptorul LDL este o glicoproteină cu 839 de aminoacizi, organizat în cinci domenii structurale: trei extracelulare, unul membranar și unul citoplasmatic (Fig. 10.66).

Sinteza acizilor biliari

Transformarea colesterolului în acizi biliari este cea mai importantă cale de catabolizare a acestuia. Sinteza acizilor biliari are loc în hepatocite, de aici sunt secretați în canaliculele biliare și după tranzit prin vezica biliară sunt deversați cu bila în duoden.

Colesterolul suferă procese de hidroxilare și degradare oxidativă a catenei laterale în urma cărora se formează acizii biliari primari.

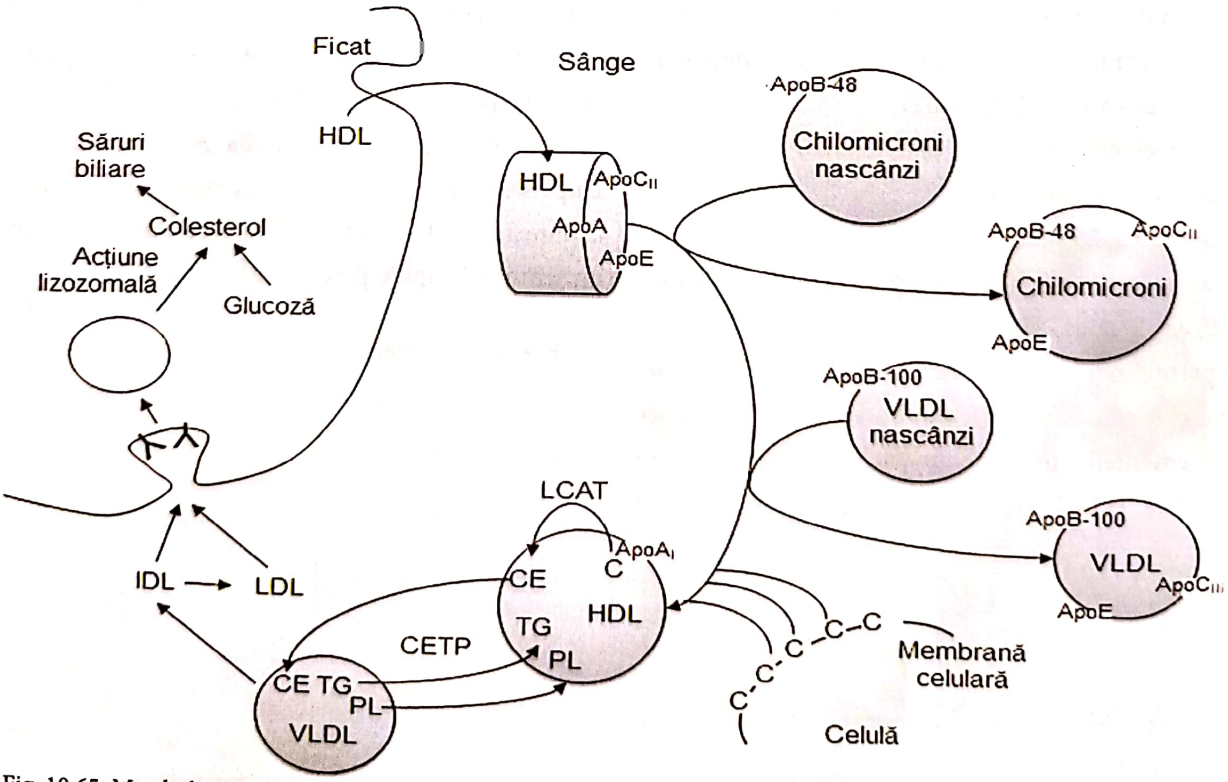


Fig. 10.65. Metabolismul lipoproteinelor (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

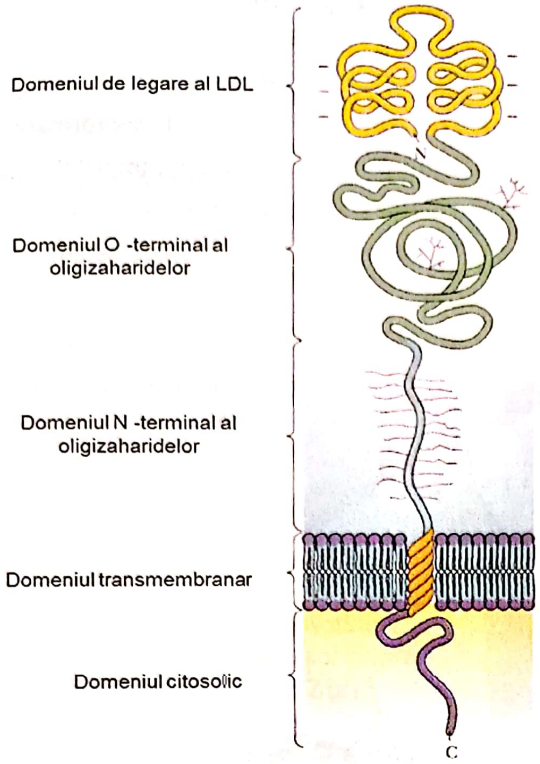


Fig. 10.66. Receptorul LDL (modificat după Petrides, 2014)

Acizii biliari sintetizaţi în ficat sunt denumiţi acizi biliari primari, aceştia sunt: acidul colic şi acidul chenodezoxicolic, vezi fig 10.67.

La nivelul ficatului acizii biliari primari sunt conjugaţi cu glicocol sau cu taurina rezultând acizii glicocolic, taurocolic, glicochenodezoxicolic şi taurochenodezoxicolic. În compoziţia bilei aceştia se găsesc sub forma sărurilor de sodiu şi respectiv potasiu (săruri biliare).

La nivelul intestinului după ce şi-au îndeplinit funcţia de solubilizare a lipidelor alimentare şi de absorbţie a acestora, acizii biliari sunt supuşi unor transformări catalizate de enzime ale florei bacteriene: hidroxilarea nucleului sterolic în poziţia 7 şi hidroliza legăturii amidice (Fig. 10.68).

În urma acestor transformări se formează acizii biliari secundari: acidul dezoxicolic şi respectiv acidul chenodezoxicolic (Fig. 10.69).

Acizii biliari secundari sunt absorbiţi în porţiunea distală a ileonului şi prin sistemul port ajung la ficat,

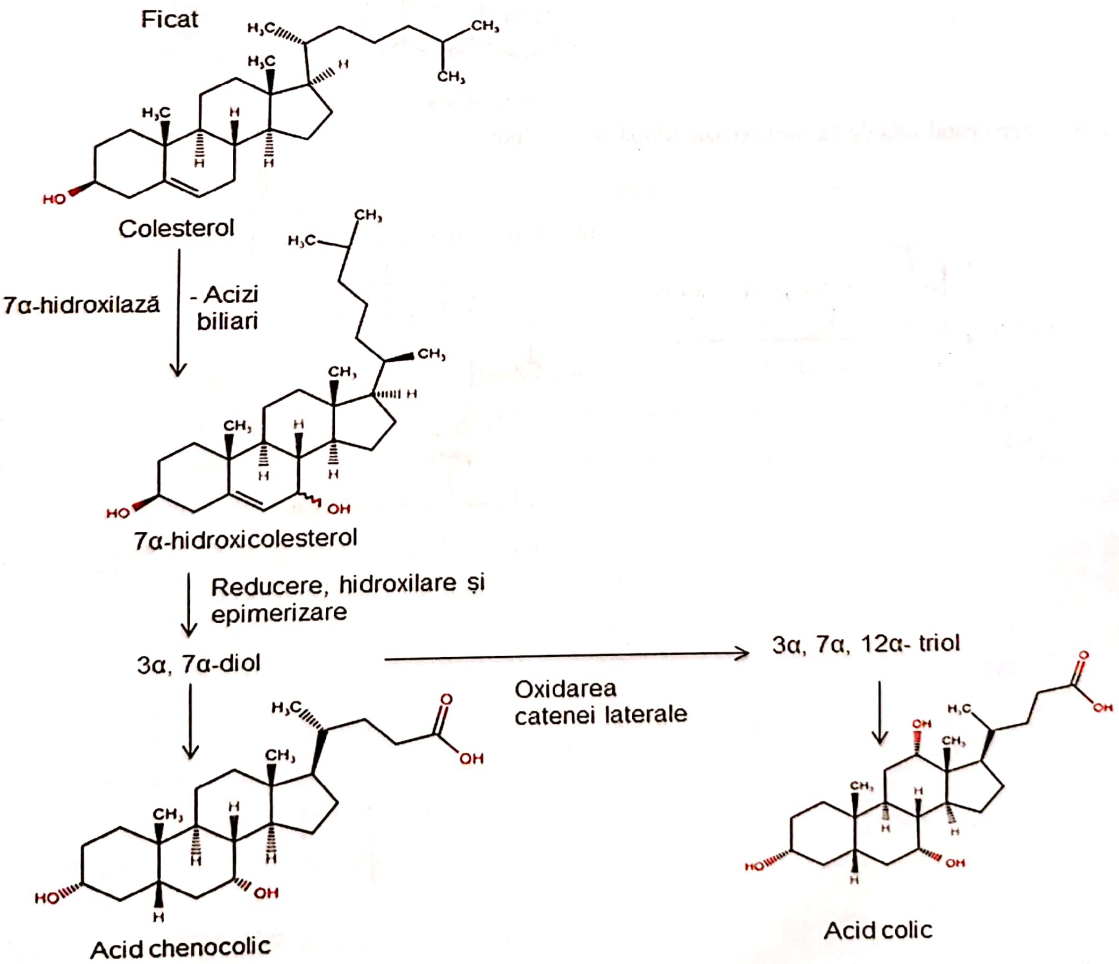


Fig. 10.67. Acizi biliari primari (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

unde sunt conjugaţi şi eliminaţi din nou în intestin împreună cu alţi acizi biliari primari, realizându-se astfel circuitul enterohepatic. 5% din acizii biliari nu sunt reabsorbiţi şi se elimină prin fecale (sub formă de coprostanol şi coprostanonă), constituind o cale de eliminare a colesterolului.

Ştiind că fondul de acizi biliari ai organismului este de 2-4g, şi aceştia sunt recirculaţi de 6-8 ori/zi, rezultă ca 12-32g parcurg zilnic circuitul enterohepatic. Pierderile intestinale de acizi biliari fiind de aproximativ 0,2-0,6g/zi, (Fig. 10.70).

Rolul colesterolului în ateroscleroză

Ateroscleroza este o boală în care plăcile formate la nivelul pereţilor majorităţii arterelor, îngustează lumenul vascular şi scad elasticitatea vasculară.

Placa este alcătuită din celule musculare netede, lipide şi detritusuri celulare ce se acumulează la nivelul intimei peretelui arterial (Fig. 10.71). Studii pe om şi animale au arătat ca formarea acestei plăci progre-

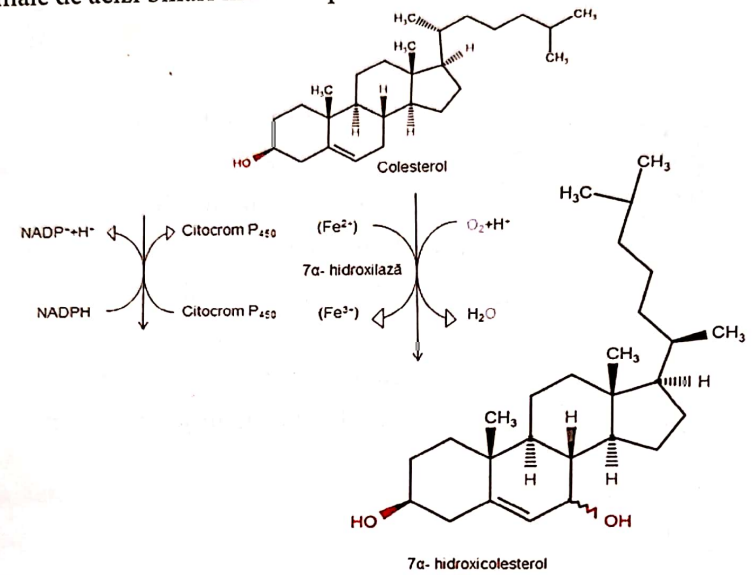


Fig. 10.68. Reactia catalizata de 7α hidroxilaza (după Marks, 2005)

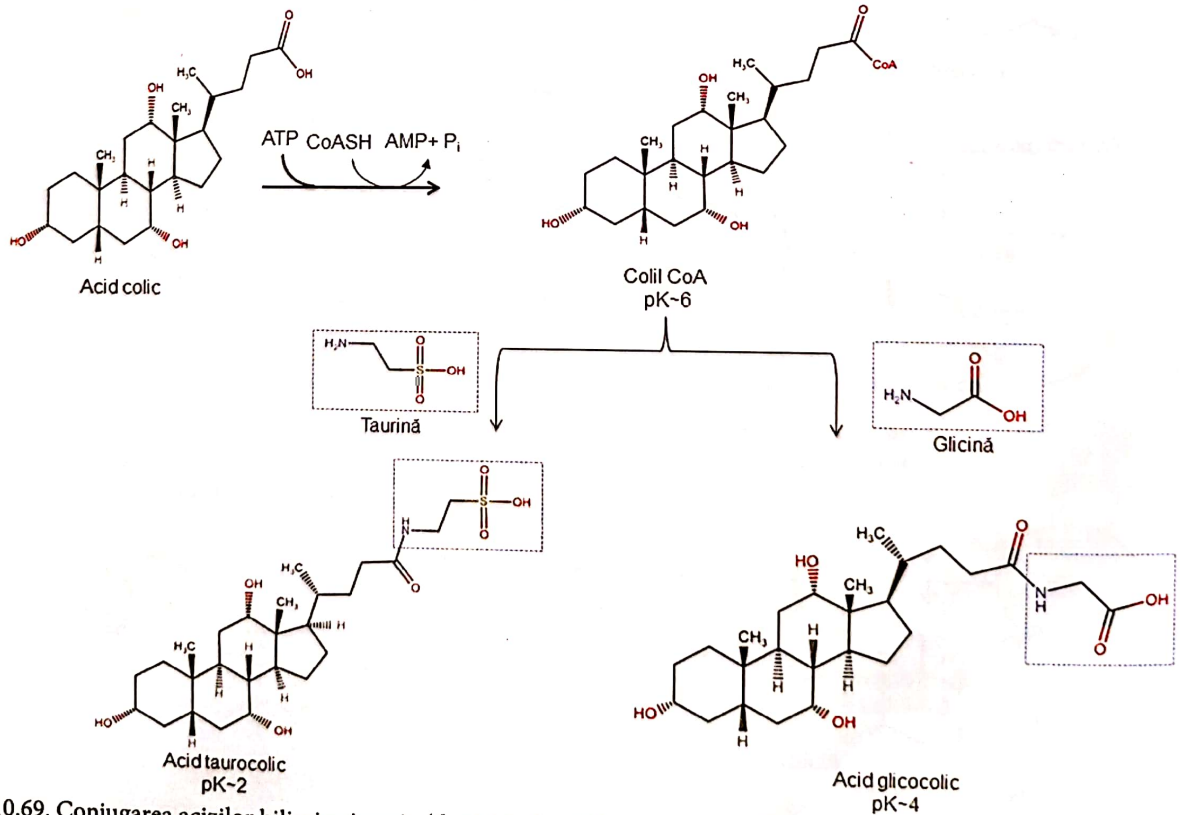


Fig. 10.69. Conjugarea acizilor biliari primari (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

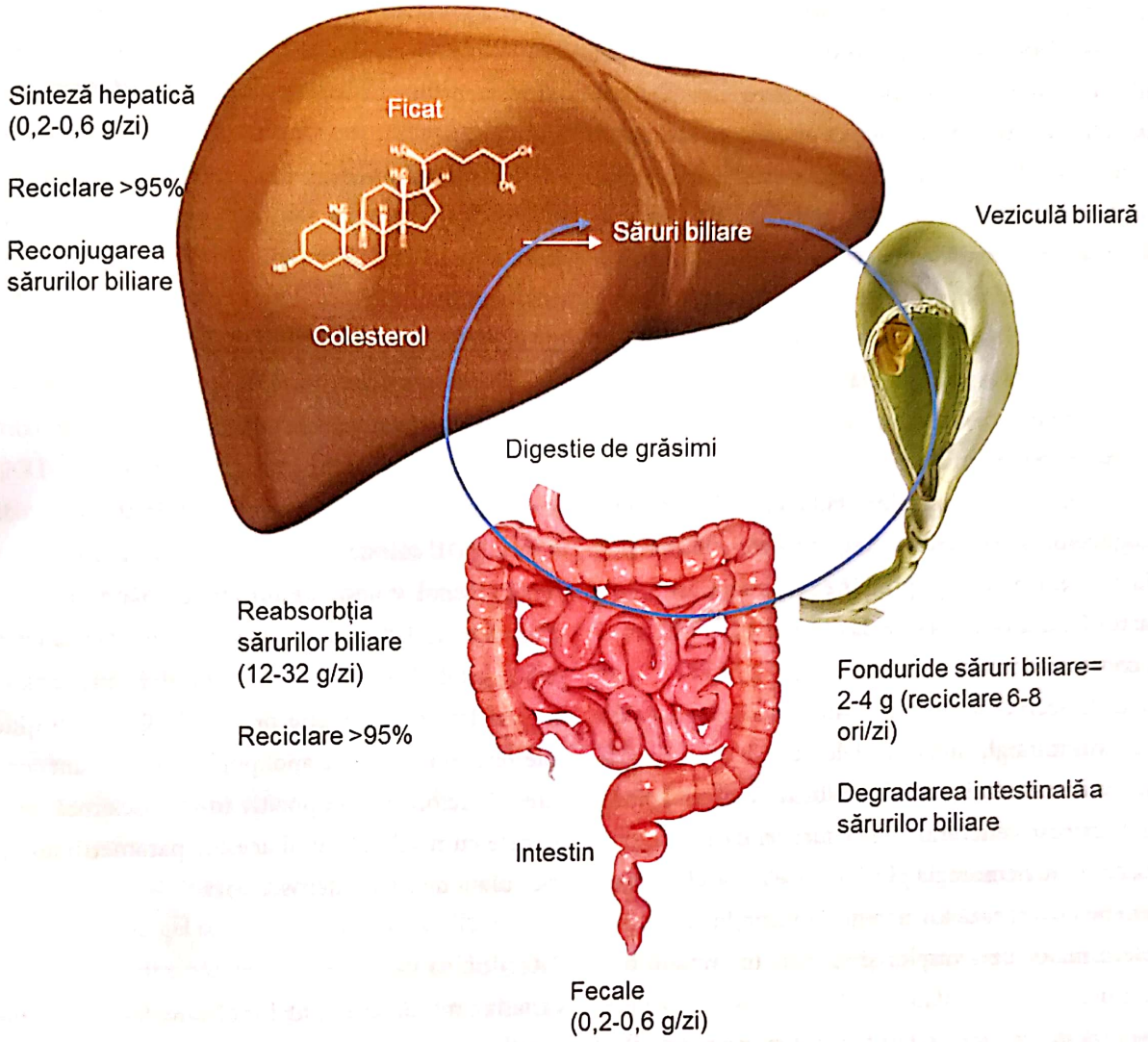


Fig. 10.70. Circuitul enterohepatic (modificat după Marks, 2005)

sează cu vârsta. Procesul are loc la nivelul spațiului subendotelial al vaselor de sânge, favorizat de acumularea celulelor spumoase formate ca urmare a fagocitozei LDL oxidat. Vitaminele E, C, A inhibă oxidarea LDL, radialii liberi formați în cantitate mai mare cu vârsta favorizează oxidarea. Este bine cunoscut faptul că o dietă bogată în legume și fructe (cinci mese pe zi) previne infarctul miocardic, posibil datorită conținutului în vitamine A,E și C.

Colesterolul face parte din constituția plăcii ateromatoase.

Etapele principale ale procesului aterogenic:

Inițierea procesului are loc prin lezarea peretelui celulelor endoteliale arteriale, prin mecanisme mecanice sau citotoxice (oxidarea LDL). Aria lezată atrage monocitele sanguine care la acest nivel se transformă în macrofage ce prezintă receptori pentru lipidele oxidate (LDL). Prin fagocitoza lipidelor oxidate macrofagele devin celule spumoase (pline cu

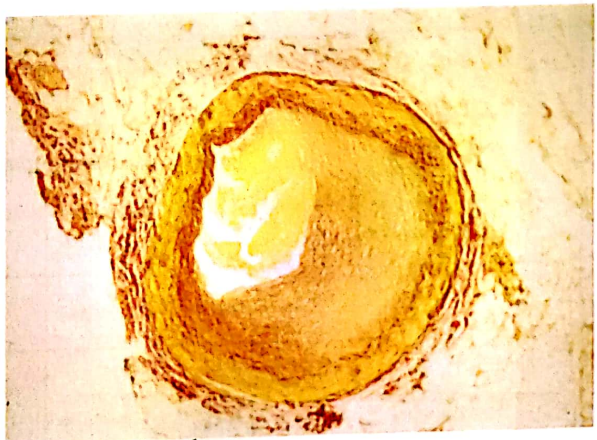


Fig. 10.71. Placa de aterom

Scanned with OKEN Scanner

grasime).

Celulele spumoase distrug integritatea stratului celular endotelial expunând astfel matricea extracelulară ce favorizează agregarea plachetară şi secretă tromboxan A2 (TXA2) favorizând astfel agregarea plachetară ulterioară. Aceste celule secretă şi factori de creştere precum platelet-derived growth factor (PDGF).

Factorii de creştere secretaţi de plachetele sanguine şi de macrofage stimulează proliferarea celulelor musculare netede, ce migrează din tunica medie către intima peretelui arterial.

La nivelul intimei celulele eliberează lipide (triacilgliceroli şi colesterol) ce se acumulează la nivelul plăcii în formare. Lipoproteine plasmatice, în mare parte LDL continuă să intre la acest nivel contribuind la construcţia plăcii ateromatoase, (Fig. 10.72)

Celulele secretă la nivelul leziunii colagen, elastină şi glicozaminoglicani, cristalele de colesterol se găsesc în centrul plăcii. Celulele blocate la nivelul plăcii sunt distruse generând detritusuri celulare.

Ruptura sau hemoragia plăcii la nivelul vaselor coronariene favorizează formarea unui trombus ce poate determina ocluzia vaselor şi apariţia infarctului miocardic.

Factorii de risc aterosclerotic sunt reprezentaţi de:

- vârsta– bărbaţi peste 45 de ani; femei peste 55 de ani;
- istoria genetică a individului;
- fumatul;
- hipertensiunea arterială (TA peste 140/90 mm Hg);
- HDL colesterol scăzut; LDL-colesterol crescut
- obezitate(mai mult de 30% peste greutatea normală);
- diabet zaharat;
- sedentarism;

La om valoarea normală a LDL colesterolului este de 120mg/dl, această valoare este mult superioară concentraţiei optime de funcţionare a receptorilor LDL, acest lucru explicând riscul crescut de ateroscleroză la om. HDL colesterolul joacă un rol important în metabolismul colesterolului, participând la transportul acestuia din ţesuturile extrahepatice la ficat, sediul catabolismului colesterolului (transformare în acizi biliari şi excreţie prin bilă). Concentraţiile colesterolului HDL şi a apolipoproteinei A sunt consideraţi factori de risc pozitiv în ateroscleroză, persoanele cu nivel ridicat al acestor parametrii au un risc scăzut de a face ateroscleroză.

Patobiochimie

Variaţia cantitativă a lipidelor plasmatice a uneia din fracţiunile lipoproteice, sau modificarea raportului dintre diversele componente este denumită dislipidemie sau dislipoproteinemie.

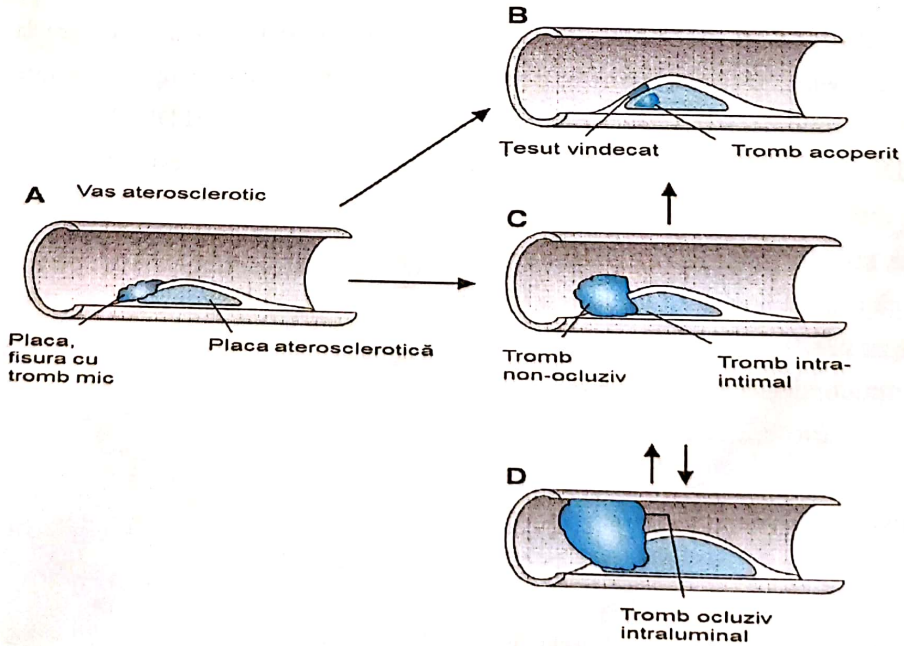


Fig. 10.72. Evolutia plăcii aterosclerotice (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Pentru stabilirea riscului de ateroscleroză, deziderat important pentru practica medicală este creşterea nivelului plasmatic al lipoproteinelor, respectiv hiperlipoproteinemiile, prezintă importanţă majoră.

Hiperlipoproteinemiile, constau în creşterea nivelului unor fracţiuni normale cum ar fi LDL (β-lipoproteine) şi HDL (α-lipoproteine) sau apariţia şi persistenţa în ser a chilomicronilor şi/sau a VLDL (pre-β-lipoproteine), lipoproteine care lipsesc în serul recoltat dimineaţa după o noapte de post.

Alterarea genelor care controlează liposinteza, transportul sau utilizarea lipoproteinelor este factorul determinant al disproteinemiilor ereditare. Alterarea tabloului lipidic sanguin poate fi secundară altor maladii. Conform clasificării lui Frederickson, hiperlipoproteinemiile se clasifică în 5 tipuri (I-V) tipul II manifestându-se în două variante II.a şi II.b.

Tipurile de hiperlipoproteinemii diferă prin:

- *aspectul serului*;
- *variaţia cantitativă a colesterolului total şi triacilgliceroliilor serici*;
- *variaţia cantitativă a lipoproteinelor evaluate prin electroforeză* în gel de agaroză, sau poliacrilamidă.

Hiperlipoproteinemia de tip I. Acest tip de dislipidemie se caracterizează prin prezenţa chilomicronilor în cantitate mare (lipidograma prezintă o bandă intensă în regiunea chilomicronilor).

Serul are un aspect lăptos şi prin păstrare la rece separă un strat cremos de triacilgliceroli.

Principala deficienţă biochimică a acestui tip de dislipidemie, constă într-o carenţă a lipoproteinlipazei, enzimă implicată în metabolizarea chilomicronilor. Boala se manifestă clinic din primele luni de viaţă prin dureri abdominale, hepatosplenomegalie, depuneri de lipide în ţesuturi (xantoame) (Tabel. 10.2).

Hiperlipoproteinemia de tip II se caracterizează printr-o deficienţă a receptorilor membranari pentru LDL, ceea ce duce la creşterea concentraţiei LDL şi a colesterolului vehiculat de LDL. În forma pură a bolii (IIa.), modificarea lipidică majoră este hiper-colesterolemia şi creşterea LDL.

În forma IIb se adaugă şi o creştere VLDL concomitent cu hipertrigliceridemie. Riscul pentru ateroscleroză este foarte ridicat.

Hiperlipoproteinemia de tip III (hiperlipoproteinemie cu bandă β lărgită). Această anomalie se caracterizează prin creşterea concomitentă a triacilgliceroliilor şi colesterolului seric. Lipidograma cuprinde o bandă β largă care acoperă şi zona pre β, fapt care se datoreşte sintezei unei lipoproteine anormale cu proprietăţi comune LDL + VLDL.

Deficitul de apo E şi sinteza unei proteine ne-

Tabel 10.2. Tipuri de dislipidemie

Caracteristici biochimice	Tipuri de dislipidemie					
	I	IIa	IIb	III	IV	V
Aspectul serului	Cremos	Clar	Clar opalescent	Opalescent	Opalescent lactascent	Lactascent cremos
Trigliceride serice	↑	N	↑	↑	↑	↑
Colesterol total seric	N/ uşor ↑	↑	↑	↑	N/ ↑	Uşor ↑
Fracţiunea lipoproteică modificată	chilomicroni	LDL	LDL VLDL	LDL+VLDL	VLDL	Chilomicroni VLDL
Vârsta	Copii	Orice vârstă	Orice vârstă	Adulţi	Adulţi	Adolescenţi
Risc aterosclerotic	Mic	Mare	Foarte mare	Mare	Foarte mare	Mic
Manifestări clinice	Xantoame eruptive	Xantomatoză	Obezitate Diabet zaharat	Xantoame eruptive	Obezitate Diabet zaharat	Xantoame eruptive

Scanned with OKEN Scanner

funcţionale, reprezintă defectul biochimic al acestei anomalii. Pacienţii cu acest tip de hiperlipoproteinemie, prezintă un risc crescut pentru accidente vasculare cerebrale sau coronariene, fiind în acelaşi timp supraponderali sau hiperuricemici.

Hiperlipoproteinemia tip IV (hipertrigliceridemie majoră endogenă, hiperbetalipoproteinemie) se datoreaz ă unui dezechilibru între fluxul plasmatic de VLDL ce transportă trigliceridele sintetizate endogen şi capacitatea redusă de epurare plasmatică a VLDL. Tabloul lipidic este caracterizat prin creşterea VLDL şi a trigliceridelor, colesterolul este normal sau moderat crescut. Clinic se manifestă prin obezitate, diabet. Tablou clinic asemănător cu cel indus de consumul exagerat de glucide, alcoolism, substanţe toxice.

Hiperlipoproteinemia tip V în aceasta afecţiune trigliceridemia este crescută atât pe seama chilomicronilor (transportă trigliceridele exogene) cât şi pe seama VLDL (transportă trigliceridele endogene). Lipemia creşte ca urmare a unui prânz bogat în lipide şi glucide.

Manifestările clinice apar la vârsta adultă şi se caracterizează prin: hepatosplenomegalie, dureri abdominale, xantoame eruptive şi risc crescut pentru boli vasculare aterosclerotice.

Hipolipoproteinemiile familiale

Boala Tangier (*deficit familial de HDL*) se caracterizează prin deficit în sinteza apo-A, component proteic al HDL. Concentraţia plasmatică a HDL este redusă ca şi colesterolul-HDL şi fosfolipidele. Boala se manifestă precoce cu acumularea colesterolului în numeroase celule, hipertrofie amigdaliană, splenomegalie, anomalii neurologice.

Abetalipoproteinemia familială este determinată de o sinteză defectuoasă a apo-B şi apo-C, din chilomicroni şi VLDL. Profilul lipidic este modificat în sensul unei hipolipemii totale, sunt scăzute trigliceridele, colesterolul şi fosfolipidele. LDL, VLDL şi chilomicronii fiind absente.

Deficitele enzimelor implicate în digestia lipidelor au drept consecinţă malabsorbţia lipidică, imposibilitatea formării chilomicronilor, a absorbţiei intestinale a trigliceridelor şi a altor lipide din dietă. Tabloul clinic cuprinde şi tulburări neurologice, oftalmologice, hematologice datorate deficienţei lipidice a organismului.

Având drept punct de plecare existenţa unei corelaţii directe între nivelul colesterolemiei şi incidenţa

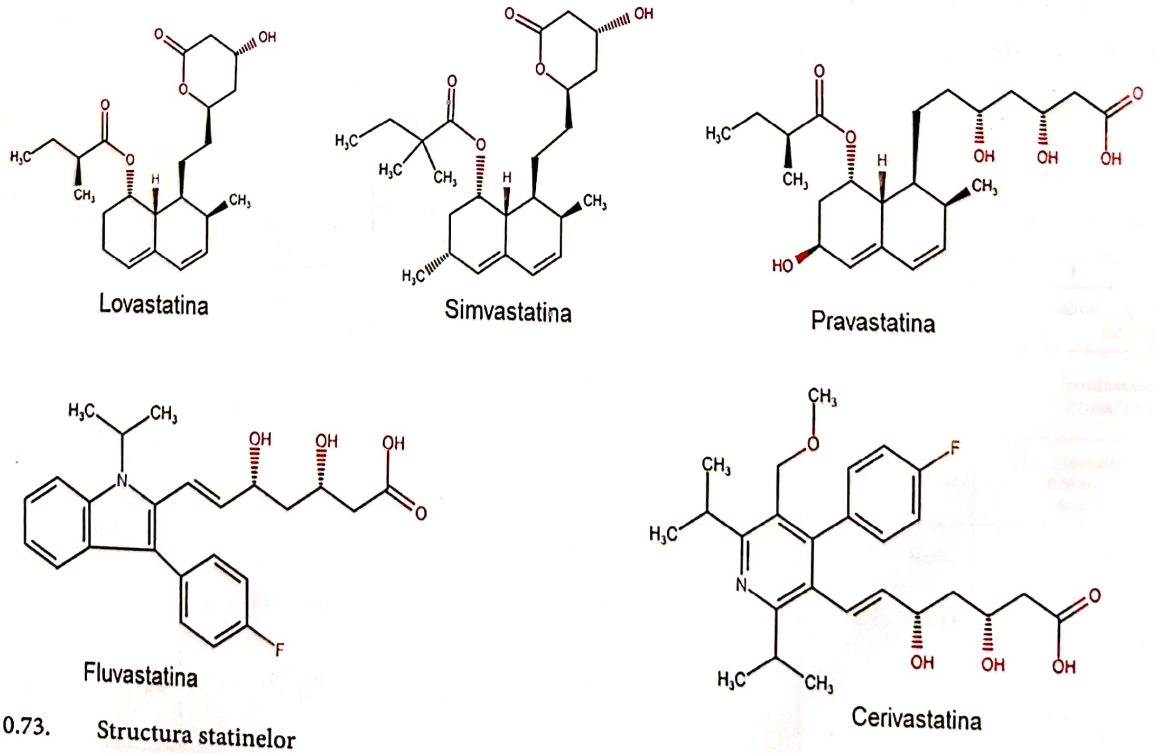


Fig. 10.73. Structura statinelor

Scanned with OKEN Scanner

bolilor cardiovasculare s-au facut numeroase studii prin care s-a încercat reducerea sintezei de colesterol inclusiv a celei endogene. În vederea tratării hipercolesterolemiilor s-au sintetizat diverşi compuşi care inhibă sinteza de colesterol. Unii dintre aceştia s-au dovedit a fi inhibitori ai HMG-CoA reductaza. Din această clasă fac parte statinele (Fig. 10.73).
Dintre acestea lovastatinul este lipsit de toxicitate şi este folosit în tratamentul hipercolesterolemiilor. Un alt exemplu îl constituie clofibratul, acesta acţionează asupra trigliceridelor.
Ca mecanism de acţiune se poate descrie:
- intensifică actiunea lipoproteinlipazei (LPL);
- reduce VLDL;
- intensifică oxidarea acizilor graşi liberi;
- inhibă biosinteza colesterolului;
- intensifică secreţia biliară a colesterolului.
Calculii biliari sunt formaţi în mare parte (50-80%) din cristale de colesterol. Strategia de prevenire a litiazei biliare prin scăderea sintezei colesterolului (statinele) şi creşterea solubilizării acestuia prin administarea de acizi biliari: acidul chenodeoxicolic (chenodiol, chenix), acid ursodeoxicolic (ursodiol, actigall).

Acizii graşi n-3 în bolile cardiovasculare

Boala cardiovasculară este principala cauză de mortalitate la nivel mondial, iar schimbările dietetice realizabile au un impact major în sănătate publică. O astfel de abordare dietetică este reprezentat de un aport crescut de acizi graşi n-3 (polinesaturaţi).
Ca răspuns la rapoartele anecdotice despre prevalenţa scăzută a bolilor coronariene în cazul eschimoşilor din Greenland (*Inuits*), Bang şi Dyerberg a efectuat şase expediţii în Greenland, începând din sfârşitul anilor 1960. Ei au confirmat faptul că această populaţie, în comparaţie cu lotul martor danez, prezintă o incidenţa foarte scăzută a infarctului miocardic, un profil lipidic sanguin antiaterogenic, precum şi o reactivitate plachetară semnificativ redusă. Aceste descoperiri au fost atribuite dietei Inuite, care a fost compusă în principal din foci şi balene şi a fost extrem de bogată în acizi graşi marini n-3.
Prevalenţa bolilor inflamatorii şi imune printre Inuits a fost, de asemenea, raportată ca fiind foarte mică. Într-un seminal article din 1978, Dyerberg şi colegii săi au prezentat ipoteza că acizii graşi marini n-3 ar putea oferi protecţie împotriva aterosclerozei şi a trombozei şi au început cercetările privind efectele potenţiale ale acizilor graşi n-3 în prevenirea şi tratamentul bolilor vasculare.

Clasele biologice relevante ale acizilor graşi polinesaturaţi sunt acizii graşi n-6 şi acizii graşi n-3 (Fig. 10.74). Mamiferele nu au enzime care ar putea insera legătura dublă în poziţiile n-6 sau n-3;
Prin urmare, acidul linoleic şi acidul alfa-linolenic (ALA), precum şi unele dintre produşii lor de elongation, sunt nutrienţi esenţiali pentru mamifere; lipsa acestor nutrienţi conduce la un sindrom de deficit de acizi graşi esenţiali. La om, această deficienţă este de obicei caracterizată prin erupţii cutanate descuamative şi dermatoze hiperkeratozice.
Cantitatea minimă de acizi graşi n-6 şi n-3 este de 1,0% şi 0,2% din aportul zilnic de energie, respectiv distribuţia macronutrienţilor acceptată (dar nu neapărat ideală) variază pentru *acidul eicosapentaenoic* (EPA) şi *acidul docosahexaenoic* (DHA) între 0,25 şi 2,0 g pe zi.

Ţesuturile şi uleiurile vegetale sunt surse importante de acid linoleic şi ALA. Plantele capabile de fotosinteză sunt deosebit de bogate în ALA, reprezentând până la 55% din acizii graşi prezenţi în legume verzi. Cu toate acestea, în comparaţie cu anumite uleiuri vegetale, cum ar fi cel de soia, seminţele de in şi uleiul de rapiţă (canola), precum şi anumite nuci, legumele verzi contribuie puţin la aportul optim de ALA. Celulele de mamifere nu pot sintetiza acid linoleic şi ALA, deşi o conversie limitată (1 până la 5%) în acizi graşi polinesaturaţi cu catenă lungă are loc prin desaturare şi elongare. Acidul linoleic poate fi în cele din urmă transformat în acid arahidonic (20: 4 n-6) şi prin aceeaşi serie de enzime, ALA poate fi convertit la EPA (20: 5 n-3). Conversia EPA în

Scanned with OKEN Scanner

DHA (22: 6 n-3) implică o serie reacţii complexe, dar conversia este foarte limitată. DHA se acumulează în toate ţesuturile, inclusiv în inimă şi în peretele vascular, dar în special se acumulează în sistemul nervos şi în retină, unde împlineşte funcţii fiziologice importante.

EPA şi DHA intră în lanţul alimentar prin fitoplanctonul marin, trec în peşti şi mamifere marine - foci, morse şi balene - care sunt principalele componente ale dietei Eschimo. În dietele occidentale principala sursă de EPA şi DHA este peştele, în special peştele gras (de exemplu: macrou, păstrăv, somon, hering, sardine). Preparatele din ulei de peşte conţin cantităţi variabile de acizi graşi n-3 sub formă de trigliceride, esteri etilici sau acizi graşi liberi. Acizii graşi polinesaturaţi după esterificare (prevalent în poziţia sn-2) modulează semnalizarea locală şi structura la glicerofosfolipide şi încorporarea în membranele celulare. Acizii graşi n-3 pot fi eliberaţi prin acţiunea fosfolipazei A2, indusă de o varietate de stimuli, pe urmă sunt convertiţi prin ambele căi, tradiţionale şi noi, în moleculele de semnalizare. Căile tradiţionale

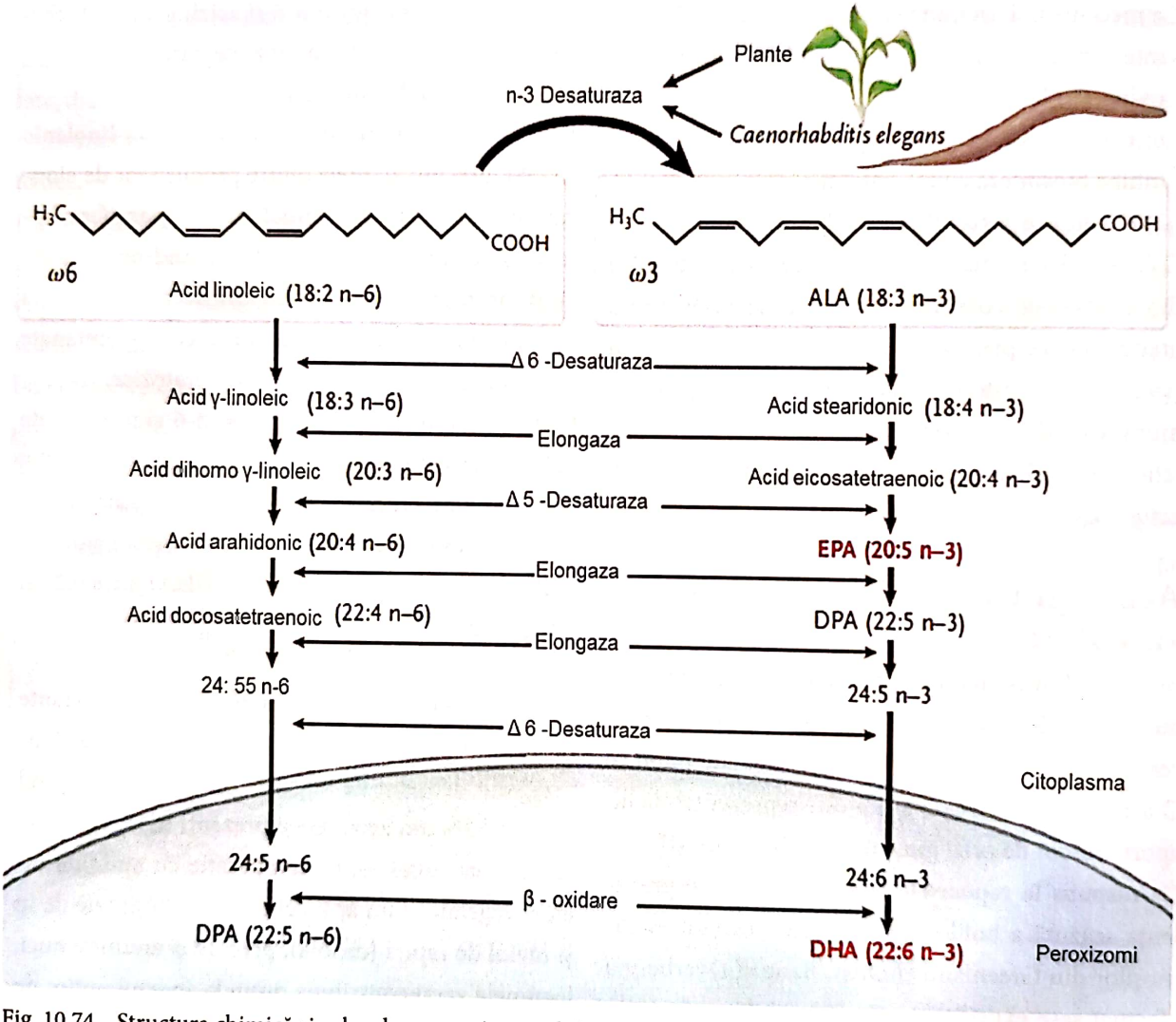


Fig. 10.74. Structura chimică şi calea de conversie a acidului linoleic şi alfa-linolenic (ALA) în derivaţi cu catenă mai lungă sau cu număr mai crescut de legături duble

Din clasa acizilor graşi n–6, acidul linoleic, poate fi convertit în acid γ-linolenic (18:3 n–6) cu ajutorul Δ6-desaturazei, apoi acidul γ-linolenic poate fi elongated (cu enzima elongaza) în acidul dihomo-γ-linolenic (20:3 n–6). Pe urmă acidul dihomo-γ-linolenic poate fi desaturat de către Δ5-desaturaza, obţinând acidul arachidonic (20:4 n–6). Cu aceeaşi serie de enzime, din familia n-3, ALA este convertit în acidul eicosapentaenoic (EPA) (20:5 n–3). Conversiile ulterioare ale EPA în acid docosahexaenoic (DHA) (22:6 n–3) include adiţia de doi atomi de carbon pentru a forma acidul docosapentaenoic (DPA) (22:5 n–3), apoi adiţia de încă a doi atomi de carbon pentru a obţine 24:5 n–3, şi o desaturare pentru a forma 24:6 n–3. Îndepărtarea a doi atomi de carbon din 24:6 n–3, printr-o β-oxidare peroxizomală limitată, duce la obţinerea DHA (întrega conversie complexă de EPA în DHA se numeşte Sprecher's shunt). EPA and DHA, cei mai importanţi acizi graşi n-3 sunt trecuţi cu roşu.

Scanned with OKEN Scanner

implică reacţii de conversie în eicosanoizi biologic active, inclusiv prostaglandine, tromboxani şi leucotriene, catalizate de enzimele ciclooxigenază şi lipooxigenază (Fig. 10.75.).

În concentraţii micromolare acizii graşi n-3 au efecte directe fără a suferi metabolizare. Unele efecte directe, cum ar fi cele antiaritmice, apar rapid, fără a fi necesară încorporarea acizilor graşi n-3 în membranele celulare.

Pe de altă parte, încorporarea în membranele celulare este necesară pentru efecte pe termen lung, debut lent şi cu acţiune directă antiinflamatorie, antiaterogenică şi pentru modularea expresiei genelor endoteliale proinflamatorii şi proaterogenice (efecte

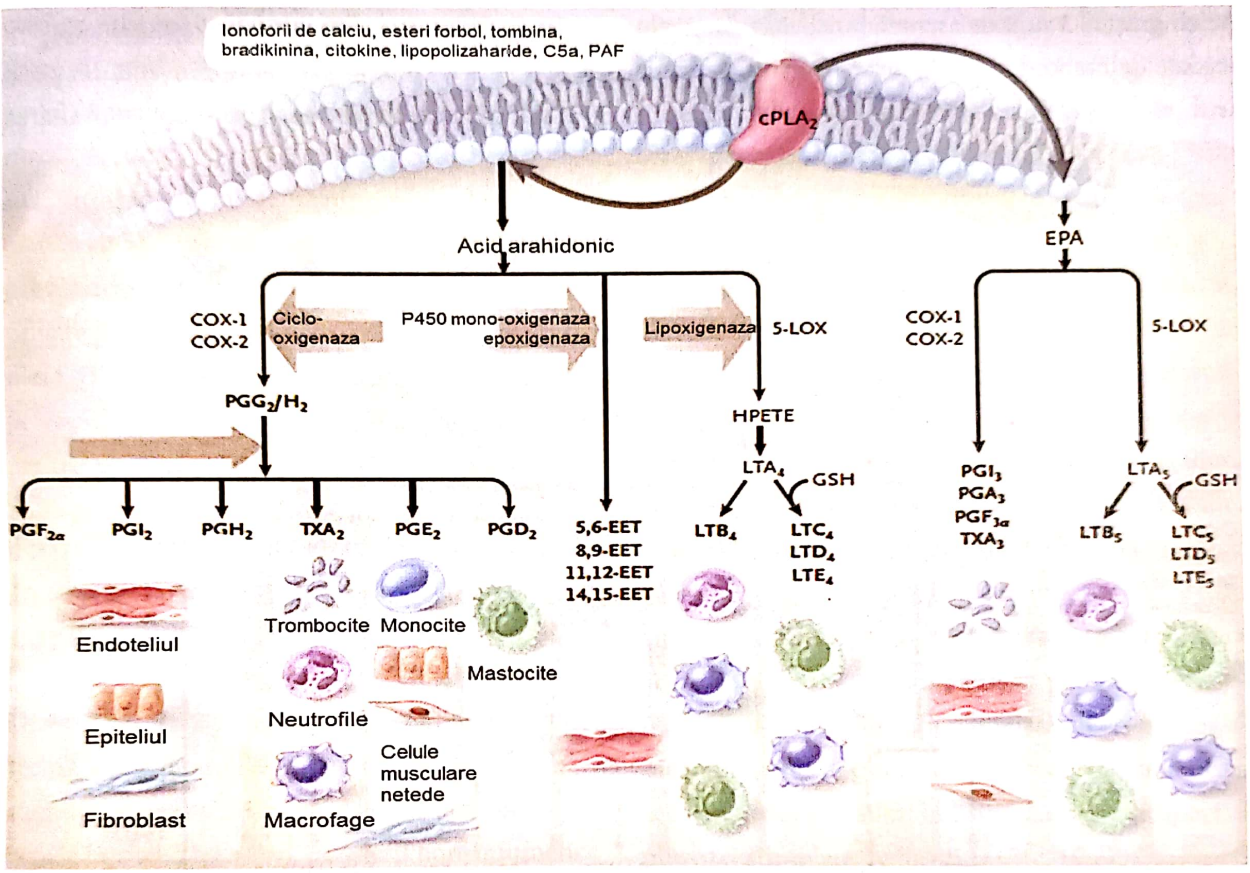


Fig. 10.75. Căile tradiţionale ale metabolismului acizilor graşi polinesaturaţi. Căile metabolice includ reacţii de conversie la eicosanoizi, care includ prostaglandine, tromboxani şi leucotriene în diferite tipuri de celule, catalizate de ciclooxigenaza-1 (COX-1), ciclooxigenaza-2 (COX-2) şi lipooxigenaze. Acidul arachidonic este precursorul prostanoidelor din seria 2 (inclusive prostaciclina [PGI2] şi tromboxan A2 [TXA2]), iar acidul eicosapentaenoic (EPA) este precursorul prostanoidelor din seria 3 (prostaglandina I3 [PGI3] şi tromboxan A3 [TXA3]). Crescând nivelul acizilor n-3 din membrane scade producerea de prostanoide, dar se favorizează sinteza de TXA3 în plachete, care spre deosebire de TXA2, derivat din acidul arachidonic, a fost raportat având o slabă activitate de agregantare plachetară şi o slabă acţiune vasoconstrictoare (deşi studiile recente au contestat această observaţie). Totuşi în celulele endoteliali produşii principali ai acidului arachidonic şi ai EPA, PGI2 şi PGI3 sunt practic echipotente în ceea ce priveşte acţiunea lor antiagregantă şi vasodilatatoare şi EPA nu interferă cu metabolismul acidului arachidonic ca şi substrat pentru COX-2. În leucocite şi monocite acidul arachidonic şi EPA sunt substrate pentru 5- lipooxigenaze (5-LOX) cu scopul sintezei leukotrienelor. Leukotrienele B4 (LTB4), derivate din acidul arachidonic au proprietăţi chemotactice şi de activare a leukocitelor potente, în timp ce leukotrienele cisteinil C4, D4 şi E4 (LTC4, LTD4 şi LTE4) au efecte vasoconstrictoare şi cresc permeabilitatea vasculară. Prin 5-LOX, EPA dă naştere la leukotrienele din seria 5, care au o mai slabă activitate proinflamatorie şi vasoconstrictoare. Abrevierea: cPLA2 fosfolipaza A2 citosolică, EET acidul epoxieicosatrienoic, GSH glutation, HPETE acidul hidroperoxi-eicosatetraenoic, LTA4 leukotriena A4, LTA5 leukotriena A5, LTB5 leukotriena B5, LTC5 leukotriena C5, LTD5 leukotriena D5, LTE5 leukotriena E5, PAF factorul de activare plachetară, PGA3 prostaglandina A3, PGD2 prostaglandina D2, PGE2 prostaglandina E2, PGF2α prostaglandina F2α, PGF3α prostaglandina F3α, PGG2 prostaglandina G2, PGH2 prostaglandina H2.

Scanned with OKEN Scanner

genomice) (Fig. 10.76).

Printr-una sau mai multe dintre mecanismele menţionate anterior, acizii graşi n-3 pot afecta mai mulţi intermediari determinanţi ai riscului cardiovascular. La doze de 3 g (sau mai mult) pe zi, în general aceste substanţe reduc hipertrigliceridemiea la om, fără a schimba în mod substanţial nivelul de colesterol. Acizii graşi n-3 sunt de asemenea asociate cu nivele scăzute de markeri si mediatori ai inflamaţiei, cum ar fi *citokine, interleukina-1β şi factorul de necroză tumorală alfa.*

Pe baza dovezilor disponibile în prezent, American Heart Association (AHA) a recomandat ca toţi adulţii să mănânce peşte (în special peşte gras), de cel puţin două ori pe săptămână, precum şi legume care conţin acizi graşi n-3 derivaţi din plante (ALA). AHA, de asemenea, sugereaza ca pacienţii cu boala cardiacă coronariană să consume aproximativ 1 g de EPA şi DHA (combinat) pe zi, provenit din peşte gras sau capsule de ulei de peşte (după consultarea

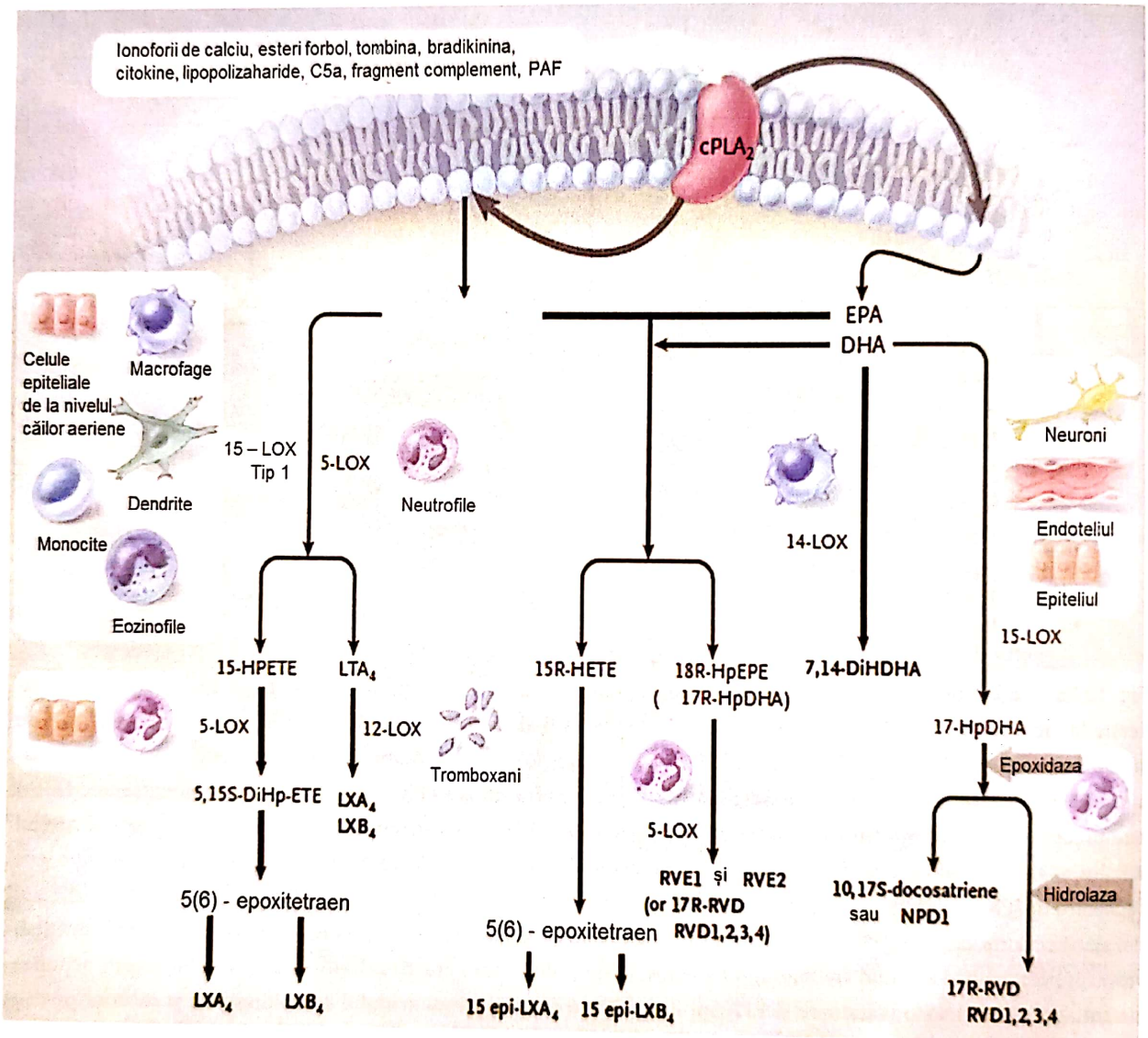


Fig. 10.76. Căi noi de metabolizare a acizilor graşi polinesaturaţi. După ce au fost eliberaţi din fosfolipidele membranare, prin metabolizare acizii graşi n-3 pot da naştere la o serie de derivaţi de eicosanoizi noi, catalizate de lipooxigenaze, ciclooxigenaze modificate, sistemul citocromului P450, producând derivaţi hidroxilaţi şi hidroperoxiderivaţi, precum şi lipoxine, maresins şi protectins. Aceşti compuşi sunt produşi mai ales prin metabolismul transcelular în timpul rezoluţiei inflamaţiei. Prin urmare ei se numesc: "resolution-phase interaction products" (resolvins); COX-2 cicloxigenaza-2, cPLA2 fosfolipaza A2 citosolică, DHA acid docosahexaenoic, DiHDHA acid dihidroxi-docosahexaenoic, DiHp-ETE acid dihidroperoxi- eicosatetraenoic, EPA acid eicosapentaenoic, HETE acid hidroxi-eicosatetraenoic, Hp-DHA acid hidroperoxi-docosahexaenoic, HpEPE acid hidroperoxi-eicosapentaenoic, HPETE acid hidroperoxi-eicosatetraenoic, 5-LOX 5-lipooxigenaza, 12-LOX 12-lipooxigenaza, 14-LOX 14-lipooxigenaza, 15-LOX 15-lipooxigenaza, LTA4 leukotriena A4, LXA4 lipoxin A4, LXB4 lipoxin B4, NPD1 neuroprotectin D1, and RV resolvin.

Scanned with OKEN Scanner

unui medic). Recomandările lui AHA arată că suplimentele cu EPA-DHA pot fi utile la pacienţii cu hipertrigliceridemie severă (> 500 mg de trigliceride per decilitru [5,6 mmol per litru]), iar în acest caz dozele eficiente sunt mai mari: 2 până la 4 g de EPA-DHA pe zi pentru a reduce nivelul trigliceridelor de la 20% până la 40%. AHA recomandă prudenţă în ceea ce priveşte contaminanţii şi constată că multe specii de peşti au concentraţii scăzute de metilmercur şi că suplimentele de ulei de peşte sunt libere de metilmercur.

Acizii graşi n-3 continuă să prezinte un interes, fiind o alternativă la medicamente şi stil de viaţă, pentru prevenirea bolilor cardiovasculare, dar există în continuare lacune importante în ceea ce priveşte această dietă. Datele sunt lipsite de studii clinice în ceea ce priveşte beneficiile presupuse ale n-3 acizi graşi, atât pentru prevenţia primară şi cât şi cea secundară.

Implicarea lipidelor în rezistenţa la insulină, dislipidemie şi boli cardiometaboli e

Diabetul de tip 2 afectează în prezent mai mult de o treime dintr-un milliard de oameni la nivel mondial şi reprezintă cauza principală a bolii renale în stadiu terminal, pierderii non-traumatice a membrelor şi a orbirii la adulţii activi profesional, cu costuri anuale estimate care depăşesc 500 miliarde de dolari. Mai mult, se estimează că prevalenţa mondială a di-abetului de tip 2 va creşte cu mai mult de 75% în următoarele 2 decenii, cele mai multe îmbolnăvi-ri având loc în Asia şi India subcontinentală. Deşi funcţia scăzută a celulelor beta pancreatice este re-sponsabilă în ultimă instanţă pentru progresia de la normoglicemie la hiperglicemie, rezistenţa la insu-lină este anterioară funcţionării reduse a celulelor beta şi joacă un rol major în patogeneza diabetului 2. După ingestia de carbohidraţi, glucoza este depozi-tată în principal sub formă de glicogen în muşchi şi ficat, iar o alterare a reacţiei acestor organe la insu-lină duce la post şi hiperglicemie postprandială. În urmă cu mai bine de un secol, Randle şi colegii săi au propus ipoteza că o creştere a oxidării acizilor graşi ar duce la un raport crescut dintre acetil coenzima A (CoA) intramitocondrială şi CoA, respectiv un raport crescut dintre NADH şi NAD_+, cu inactivarea ulterioară a piruvat-dehidrogenazei, care duce la o scădere a oxidării glucozei. La rândul său, aceasta ar creşte concentraţiile intracelulare de citrate, ducând la inhibarea fosfofructokinazei, o enzimă cheie de control a vitezei în procesul glicolizei. Inhibarea glicolizei în această etapă ar duce la concentraţii intracelulare crescute de glucozo-6-fosfat (G6P), care ar inhiba activitatea hexokinazei, rezultând o creştere a concentraţiei intracelulare de glucoză şi o scădere a preluării glucozei de către muşchi. La persoanele sănătoase, scăderea activităţii de transport al glucozei stimulată de insulină, indusă prin perfuzia cu lipide, este similară cu cea observată la persoanele obeze cu rezistenţă la insulină, la pacienţii cu diabet de tip 2 şi la persoanele slabe, normoglicemice, cu rezistenţă la insulină, a căror părinţi au diabet de tip 2. Luate împreună, aceste date au condus la o ipoteză alternativă, conform căreia acumularea intracelulară de metaboliţi lipidici mediază rezistenţa la insulină asociată cu obezitatea şi diabetul de tip 2, cauzând neajunsuri în semnalizarea insulinică şi scăderi în activitatea de transport al glucozei stimulată de insulină (Fig. 10.77).

Mecanismele moleculare ale rezistenţei la insulină în muşchi şi ficat

Acţiunea insulinei la nivel muscular şi hepatic necesită un schimb coordonat de semnale intracelulare, care implică în cea mai mare parte fosforilări şi defosforilări. În muşchii scheletici, insulina se leagă şi activează receptorul tirozin- kinazei al insulinei, cu fosforilarea ulterioară a substratului 1 al *receptorului insulinic* (IRS-1). (Fig. 2.77 B). Când e fosforilat, IRS-1 se leagă şi activează fosfatidilinozitol 3-kinaza (PI_3K), care, la rândul ei, prin semnalizatori intermediari, promovează translocarea transportorului glucozei de tip 4 ($GLUT_4$) pe membrana plasmatică, ducând la asimilarea glucozei în muşchiul scheletic. Dovezi suplimentare care susţin rolul acumulării li-

Scanned with OKEN Scanner

pidice ectopice în patogeneza rezistenței la insulină la nivelul mușchilor și ficatului, vin din studiile pe șoareci transgenici cu supraexpresia lipoprotein-lipazei. La soarecii transgenici cu supraexpresia lipoprotein-lipazei în ficat se manifestă acumularea lipidică hepatică și rezistența la insulină specific hepatică. În mod similar, la șoarecii transgenici cu lipoprotein-lipaza supraexprimată la nivelul mușhilor

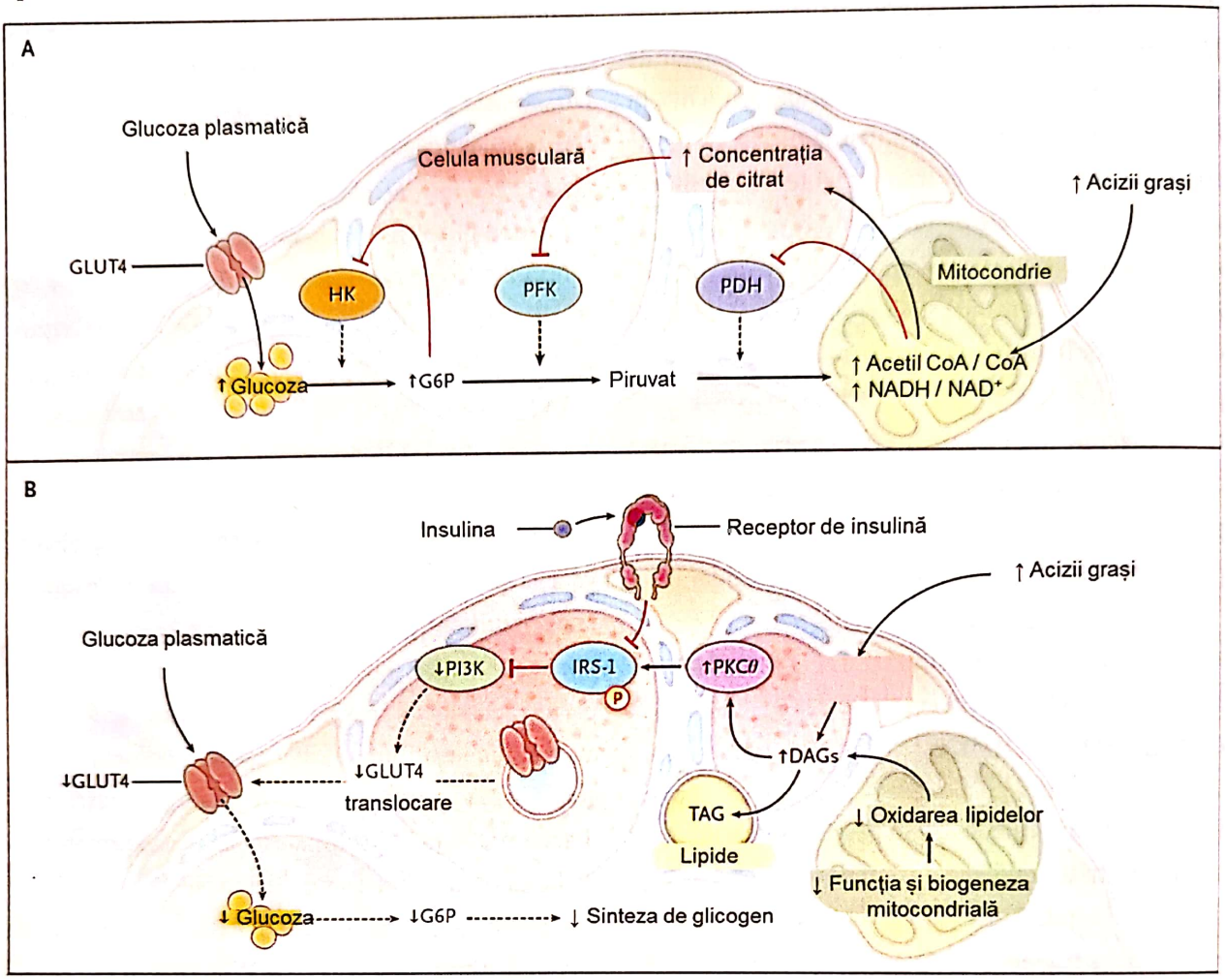


Fig. 10.77. Mecanismele moleculare ale rezistenței la insulină indusă de lipide la nivel muscular
Conform ipotezei lui Randle, o creștere a oxidării acizilor grași în mușchi duce la o creștere a raportului dintre acetil coenzima A intramitocondrială (CoA) și CoA, respectiv a raportului dintre NADH și NAD+, ducând la inactivarea piruvat-dehidrogenazei (PDH) și la o reducere a oxidării glucozei (Fig A). Rezultatul ar fi o creștere a concentrațiilor intracelulare de citrate, ducând la inhibarea fosfofructokinazei (PFK), o enzimă cheie de control al vitezei glicolizei. O creștere ulterioară a concentrațiilor intracelulare de glucozo-6-fosfat (G6P) duce la inhibarea activității hexokinazei (HK), rezultând o creștere a concentrației intracelulare de glucoză și o reducere a preluării acesteia de către mușchi. Contrar acestor previziuni, studii spectroscopice de rezonanță magnetică utilizând Fosfor-31 și Carbon-13 au indicat scăderi ale concentrațiilor intracelulare de G6P și glucoză, asociate cu defecte ale activității fosfatidilinozitol-3-kinazei (PI3K) stimulate de insulină, în timpul inducerii rezistenței la insulină în mușchi prin perfuzarea cu lipide (Fig B). Aceste date sugerează faptul că defectele induse de lipide în activitatea transportului glucozei stimulat de insulină, din cauza unei scăderi induse de lipide în semnalizarea insulinei, ar fi principalele neajunsuri în rezistența la insulină indusă de lipide, la nivel muscular, și nu reducerea indusă de lipide a activității piruvat-dehidrogenazei, după cum a fost propus de către Randle et al. Aceste studii, precum și altele ulterioare, au dat naștere unei ipoteze alternative, potrivit căreia o creștere tranzitorie a nivelului de diacilglicerol (DAG) la nivel muscular duce la activarea izoformei teta a proteinkinazei C (PKCθ). Această creștere tranzitorie a nivelului de DAG ar putea fi atribuită unui dezechilibru al fluxurilor intracelulare, prin care rata de sinteză a DAG, datorată livrării crescute de acizi grași și asimilării în miocite, depășește rata de oxidare mitocondrială a CoA cu catenă lungă și de încorporare a DAG în lipide neuter (triacilgliceroli, TAG). Activarea PKCθ duce la o fosforilare serinică crescută a substratului receptorului insulinei 1 (IRS-1), la nivelul unor situsuri critice (ex, Ser 1101), care, la rândul său, blochează fosforilarea tirozinică stimulată de insulină a IRS-1 și legarea și activarea PI3K. Aceasta duce la o scădere a activității de transport al glucozei stimulată de insulină, ceea ce va avea ca urmări o scădere a sintezei de glicogen stimulată de insulină, respectiv o scădere a oxidării glucozei. GLUT4 =transportor de glucoză tip 4.

Scanned with OKEN Scanner

scheletici, se manifestă acumulare lipidică musculară şi rezistenţă la insulină specific musculară. Luate împreună, aceste studii arată că acumularea ectopică a lipidelor intracelulare duce la rezistenţă la insulină în muşchi şi ficat , chiar şi în absenţa adipozităţii periferice şi viscerale şi că DAG sunt metaboliţi derivaţi din lipide, responsabili pentru declanşarea rezistenţei la insulină, prin activarea PKCε în ficat, respectiv prin activarea PKCθ în muşchi.

Rezistenţa musculară la insulină, dislipidemia şi steatoza hepatică non-alcoolică

Creşterea ţesutului adipos şi rezistenţa la insulină de la nivel muscular sunt defecte timpurii observate în patogeneza diabetului de tip 2. În cazul persoanelor tinere sănătoase, rezistenţa selectivă la insulină în muşchi promovează dislipidemia aterogenă, prin schimbarea modelului de glucide ingerate, de la sinteza glicogenului în muşchii scheletici la lipogeneza de novo hepatică, astfel crescând nivelul trigliceridelor plasmatice şi scăzând nivelul HDL.

Lipoliza indusă de macrophage, inflamaţia şi hiperglicemia din post. (Fig. 10.78).

Cu toate că rezistenţa la insulină indusă de lipide are loc timpuriu în patogeneza diabetului de tip 2 şi poate fi asociată cu inflamaţie, se pune problema identificării factorilor care promovează evoluţia de la rezistenţa la insulină asociată cu acumularea li-

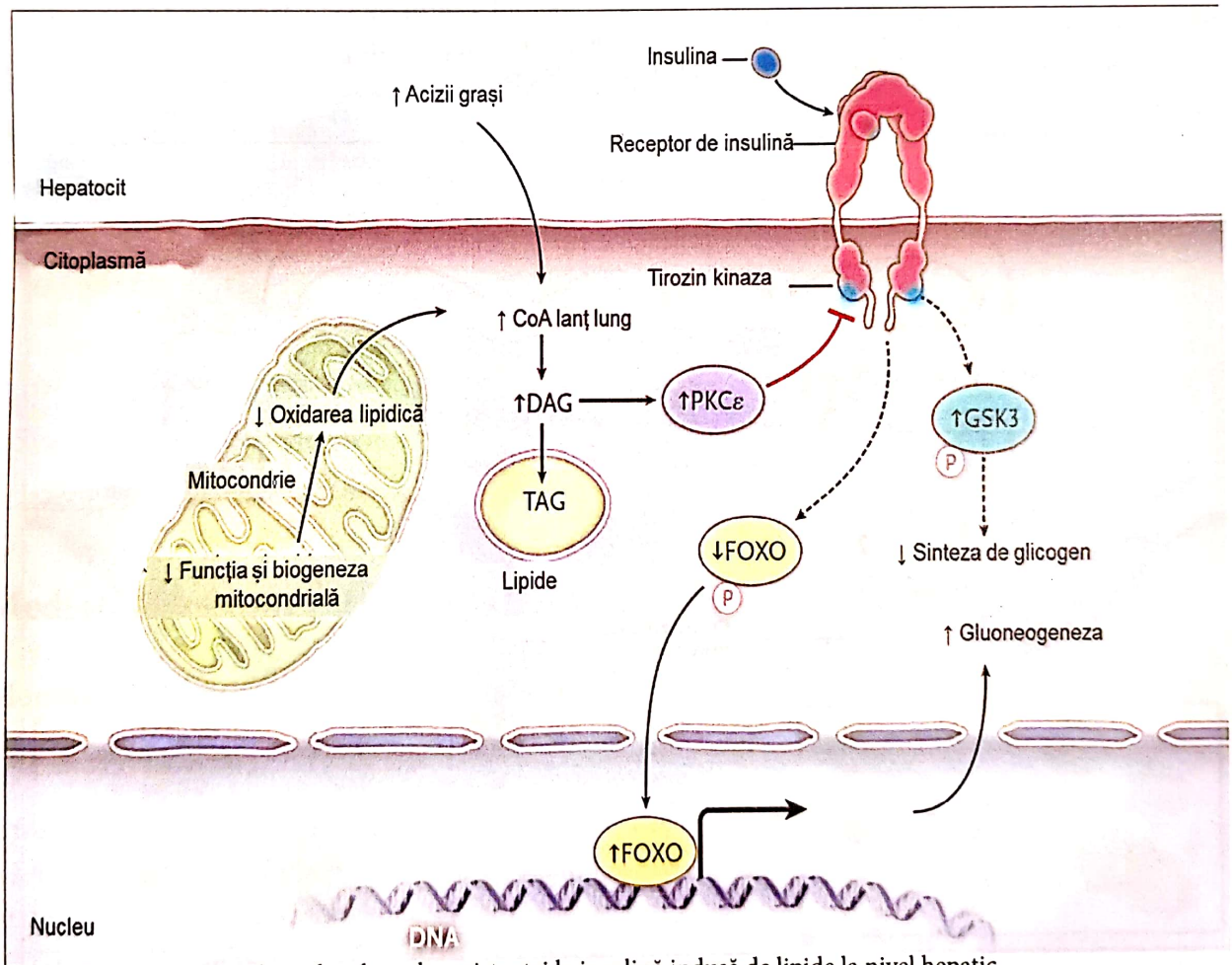


Fig. 10.78. Mecanismele moleculare ale rezistenţei la insulină indusă de lipide la nivel hepatic

În ficat, o creştere tranzitorie a DAG, din cauza unui dezechilibru al fluxurilor intrahepatocelulare, duce la activarea izoformei epsilon a proteinkinazei C (PKCε). În mod specific, această creştere tranzitorie a DAG hepatocelular are loc atunci când rata sintezei de DAG, atât din re-esterificarea acizilor graşi, cât şi din lipogeneza de novo, depăşeşte fie rata oxidării mitocondriale a CoA (grăsime) cu catenă lungă, fie rata încorporării DAG în lipide neutre (TAG), ori ambele. PKCε activată se leagă şi inhibă receptorul tirozin-kinazic al insulinei, ducând la scăderea sintezei stimulate de insulină a glicogenului la nivel hepatic , datorită fosforilării scăzute a GSK3. Aceasta duce la inhibarea activităţii glycogen-sintazei şi la o suprimare scăzută insulinică a gluconeogenezei hepatice . Aceasta are loc prin scăderea fosforilării forkhead box subgroup O (FOXO), care duce la o translocare crescută a FOXO pe nucleu, unde aceasta promovează o transcripţie genică crescută a enzimelor gluconeogenice (ex, fosfoenolpiruvat carboxikinaza PEP-CK şi G6P).

Scanned with OKEN Scanner

pidică ectopică, la toleranţa scăzută la glucoză şi la hiperglicemia din post. Perspectiva tradiţională în ce priveşte acest proces pune această tranziţie pe seama funcţionării scăzute a celulelor alfa şi beta, respectiv a inflamaţiei. Defectele celulelor alfa şi beta duc la creşterea transcripţiei genelor gluconeogenice la nivel hepatic, iar inflamaţia inhibă activitatea insulinei prin eliberarea de cytokine şi adipocitokine. La rândul lor, nivelele crescute de cytokine duc la inhibarea semnalizării insulinei şi la creşterea transcripţiei proteinei gluconeogenice hepatice, prin activarea căilor factorului nuclear kβ, kinazelor Jun-N-terminale şi a ceramidelor biosintetice. (Fig. 10.77). O ipoteză alternativă care face legătura între inflamaţie şi evoluţia la hiperglicemia din post, este efectul potenţial al lipolizei indusă de macrofage în reglarea gluconeogenezei hepatice.

Bibliografie:

1. C. Smith, A. Marks, M. Liebermann. Basic Medical Biochemistry. A clinical approach. Lippincot William & Wilkins, S.U.A, 2005.
2. Georg Löffler, Petro Petrides, Peter Heinrich. Biochemie und Pathobiochemie. Hardcover Publisher: Springer, 2005;
3. David Nelson, Michael Cox. Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman, ediţia a3a, 2000.
4. V. Kumar et al. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. A Saunders Title; ediţia a7a, 2005;
5.V. Dinu, E. Truţia, E. Popa Cristea, A. Popescu. Biochimie medicală. Mic tratat. Ed. Medicală, Bucureşti, 1998.
6. A. Anghel, D. Grecu, A. Mihala, F. Sfrijan, M. Motoc, L. Tămaş, D. Nariţa. Biochimie clinică. Principii şi aplicaţii. Pentru studenţii facultăţilor de medicină. Ed. Eurostampa, Timişoara, 2006.

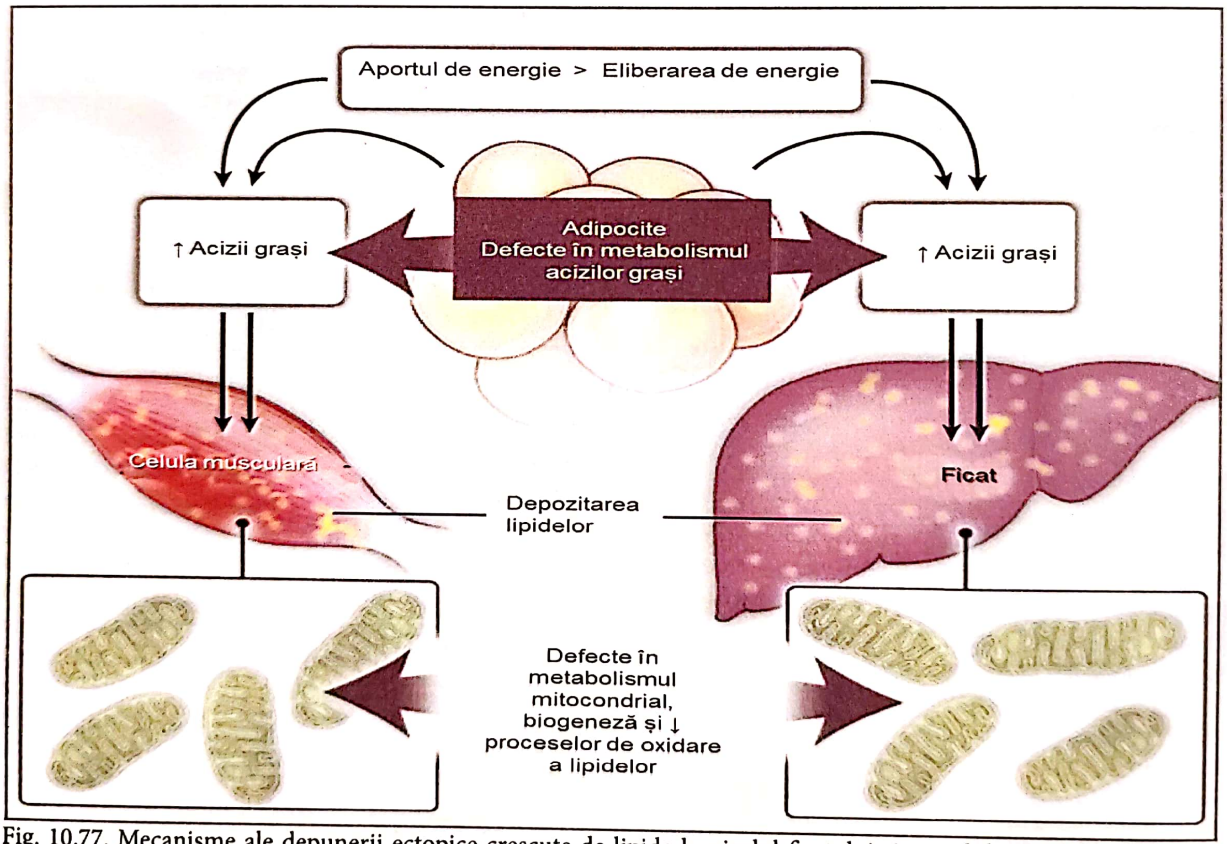


Fig. 10.77. Mecanisme ale depunerii ectopice crescute de lipide la nivelul ficatului şi muşchilor scheletici. Cea mai frecventă cauză a depunerii ectopice de lipide la nivelul ficatului şi a muşchiului scheletic este un nivel al aportului energetic care îl depăşeşte pe cel al consumului de energie, rezultând într-o re-alocare a depozitelor de energie de la ţesutul adipos la ficat şi la muşchii scheletici. Depozitele ectopice de lipide din ficat şi muşchii scheletici se pot de asemenea datora fie defectelor de depozitare a energiei în depozite lipidice, apărute din cauza lipodistrofiilor congenitale sau dobândite, fie defectelor din metabolismul adipocitelor (ex defecte în lipogeneză sau lipoliză şi inflamaţie care cauzează lipoliză crescută). Defectele dobândite ale metabolismului mitochondrial (ex, din îmbătrânire) sau defectele moştenite (ex, la persoane cu rezistenţă la insulină a căror părinţi au diabet de tip 2) – fie datorate unei reduceri intrinseci a funcţiei mitocondriale, biogenezei mitocondriale, ori ambelor – predispun persoanele la acumulare lipidică intramiocelulară şi rezistenţă la insulină în muşchi.

Scanned with OKEN Scanner

11. MEDIATORII CHIMICI SI CELULARI AI INFLAMAȚIEI

Inflamația acută: Definiție
Inflamația acută este un răspuns la lezarea unui țesut vascularizat. Scopul ei este de a livra materii de apărare (celule sanguine și fluide) la locul lezării. Implică un întreg process, nu doar o stare clinică.
Infecția nu este sinonim cu inflamația. Infecția se referă la invazia unor organisme infecțioase la nivelul unui țesut și are drept consecință procesul inflamator.
Inflamația poate avea
1. Cauze infecțioase
2. Cauze neinfecțioase
Example: reacții autoimune, toxine, ischemie, placă aterosclerotică

Cauze
- Traumă mecanică
- Accident chimic
- Radiație
- Schimbări de temperatură
- Scădere în vascularizația arterială – moartea țesuturilor (infarct)
- Biologice (infecții)
- Răspuns imun excesiv (autoimunitate)

Manifestarii
- Rubor (roșeață)
- Calor (căldură)
- Tumor (umflare)
- Dolor (durere)
- Functiolaesa (pierderea funcțiilor)

Mediatorii chimici ai inflamației

Mediatori rapizi ai inflamației. Cascada eicosanoidelor

Producția de prostaglandine, leukotriene și izoprostani face parte din răspunsul inflamator al organismului la leziuni (răni) iar inhibiția sintezei prostaglandinelor prin blocarea enzimelor numite ciclooxigenaze COX-1 si COX-2 se poate realiza cu aspirina dar și alți compuși anti-inflamatorii nesteroidieni ("non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) cum ar fi ibuprofenul. Aceste medicamente au însă și efecte secundare la nivel de tract gastrointestinal.
Compusul cheie în sinteza icosanoidelor este acidul arahidonic, un acid gras nesaturat derivat din meta-

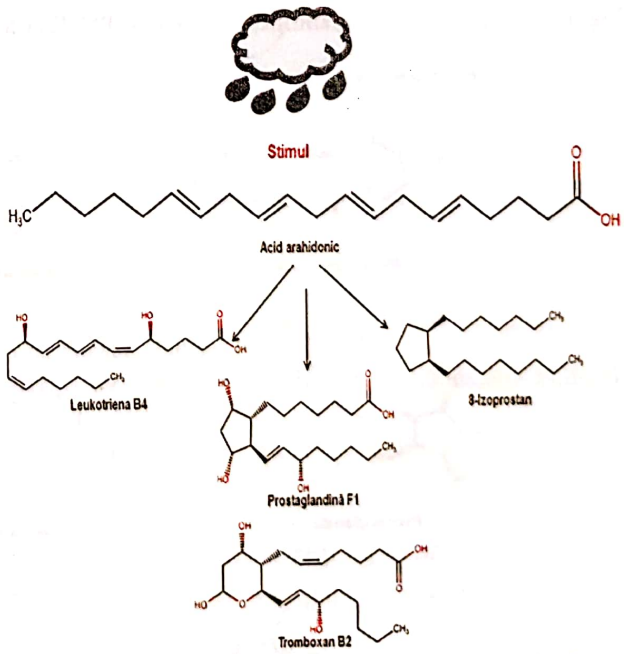


Fig. 11.1. Mediatori rapizi ai inflamației, prostaglandine (PG), leukotriene LT, LX) și isoprostani din acidul arahidonic (dupa Flower, Nature, 2003, 2, 179)

Scanned with OKEN Scanner

bolismul lipidelor, (Fig. 11.1). Acidul arahidonic împreuna cu acizii linoleic, linolenic, di-homolinolenic face parte din categoria acizilor graşi nesaturaţi implicaţi în faza rapidă, mediată chimic a inflamaţiei (Fig. 11.2).

Membrana celulară este foarte bogată în fosfolipide care pot fi scindate de enzime cum ar fi fosfolipaza A2 cu eliberare de agenţi mesageri precum acidul arachidonic ce se găseşte în structura fosfolipidelor membranei celulare. Acidul arachidonic la rândul lui este substrat pentru o clasă specială de enzime, numite ciclooxigenaze, generând compuşi intermediari cu viaţă scurtă precum prostaglandina H_2 (Fig.

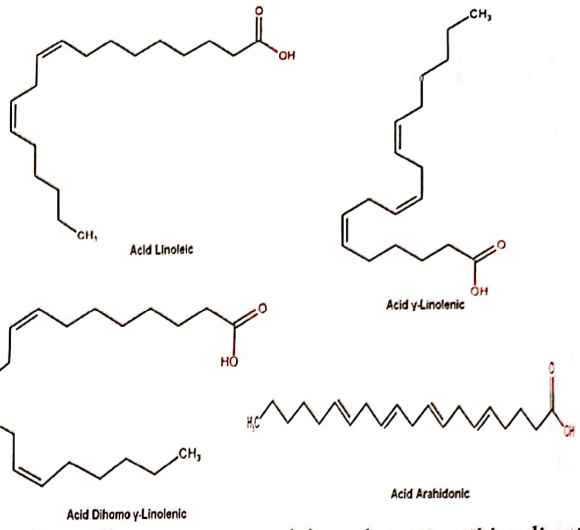


Fig. 11.2. Structura unor acizi grasi nesaturaţi implicati în inflamaţie.

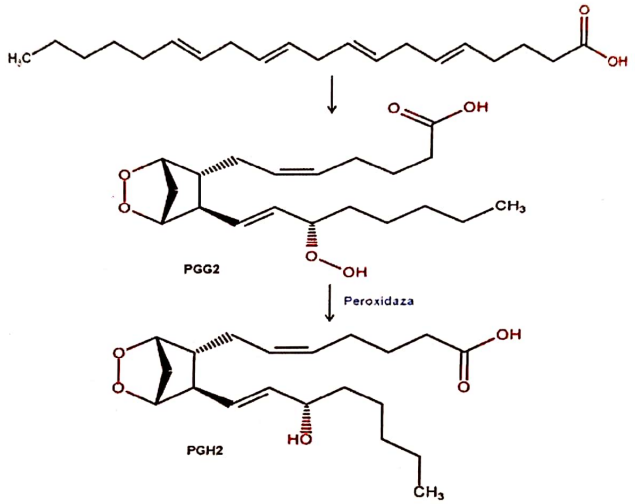


Fig. 11.3. Sinteza prostaglandinelor (PGG2 si PGH2) din acidul arahidonic

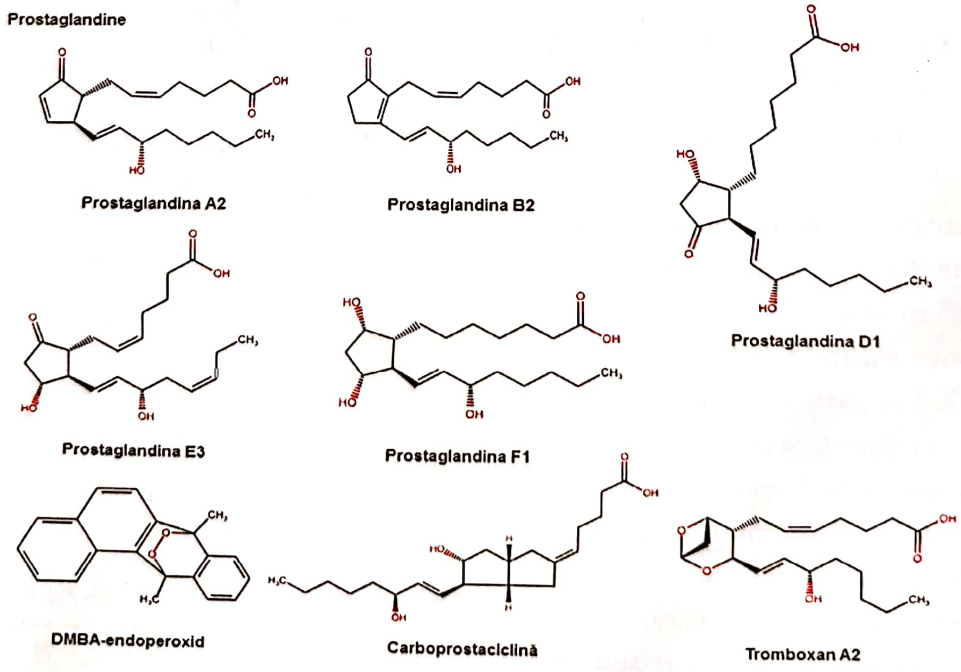


Fig. 11.4. Structura unor mediatori chimici (icozanoide) ai inflamaţiei

Scanned with OKEN Scanner

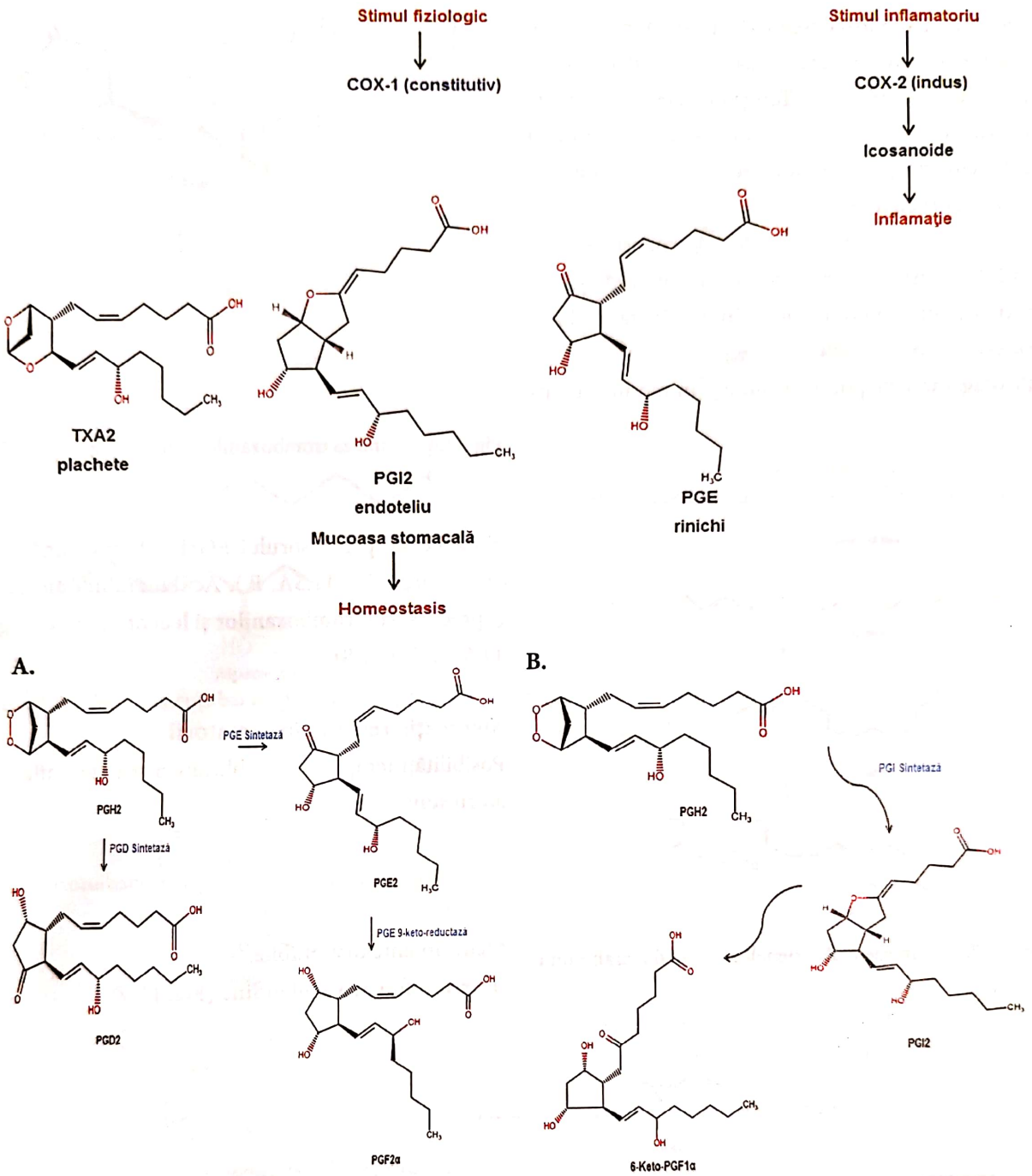


Fig. 11.5. Ciclooxigenaze de importanţa patofiziologică. (dupa Flower, Nature, 2003, 2, 179)
A. Sinteza prostaglandinelor (PGD2, PGE2 si PGF2) din PGH2; B. Sinteza prostaglandinelor (PGI2, αCeto- PGF1α) din PGH2

11.3)

Prostaglandina H_2 este precursorul unei mari varietăţi de compuşi cu funcţii extrem de diverse în inflamaţie, febră, coagularea sângelui, neurotransmisie (Fig. 11.4).

Scurt istoric al ciclooxigenazelor

Prima ciclooxigenază descrisă a fost ciclooxigenaza-1 (COX-1) exprimată constitutiv (în mod fiziologic) în plachetele sanguine şi stomac. A fost descoperită în 1971 pe baza inhibiţiei reacţiei din Fig. 11.4. de către compuşi anti-inflamatorii neste-

Scanned with OKEN Scanner

roidieni (NSAIDs). A doua enzima, ciclooxigenaza-2 (COX-2) a fost descoperită în 1990s și este fiind indusă de către citokine ca răspuns la inflamație, leziuni, atacuri epileptice. Totuși în creier, COX-2 este exprimata constitutiv (în mod fiziologic) în timpul activității sinaptice, subliniind specificitatea de organ a acestei enzime.

Ciclooxigenaza-3 (COX-3) a fost descoperită recent, în 2002, și este extrem de abundentă în inimă și cortexul cerebral, fiind implicată în mediatizarea durerii. COX-3 este specifica pt creier si inima

Prostaglandinele pot fi obținute prin modificări enzimatice ale precursorului PGH2 obținut din acid arahidonic. (Fig 11.5A, B.). Acidul arahidonic este și precursorul tromboxanilor și leucotrienelor. (Fig. 11.6, 11.7 și 11.8).

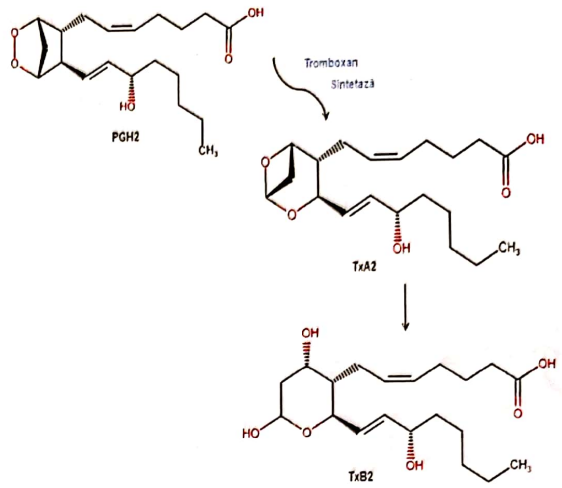


Fig. 11.6. Sinteza tromboxanilor din prostaglandina H2

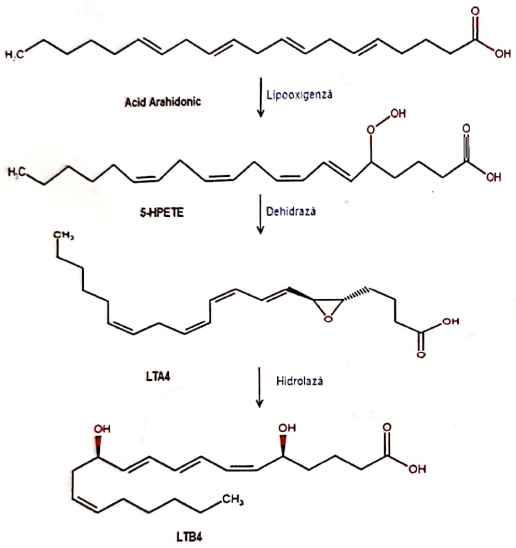


Fig. 11.7. Sinteza leukotrienelor din acidul arahidonic

Medicația reacției inflamatorii

Posibilități terapeutice de blocare a reacției inflamatorii sunt:

I. Prin suprimarea eliberării locale a mediatorilor inflamației

Medicamente disponibile:

-Derivați din prostaglandine (Fig. 11.9)

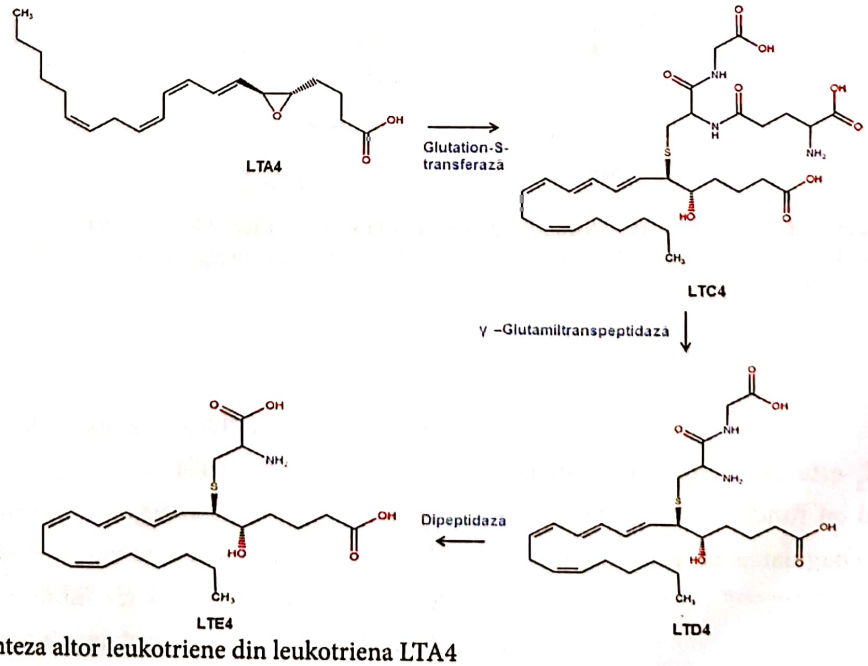


Fig. 11.8. Sinteza altor leukotriene din leukotriena LTA4

Scanned with OKEN Scanner

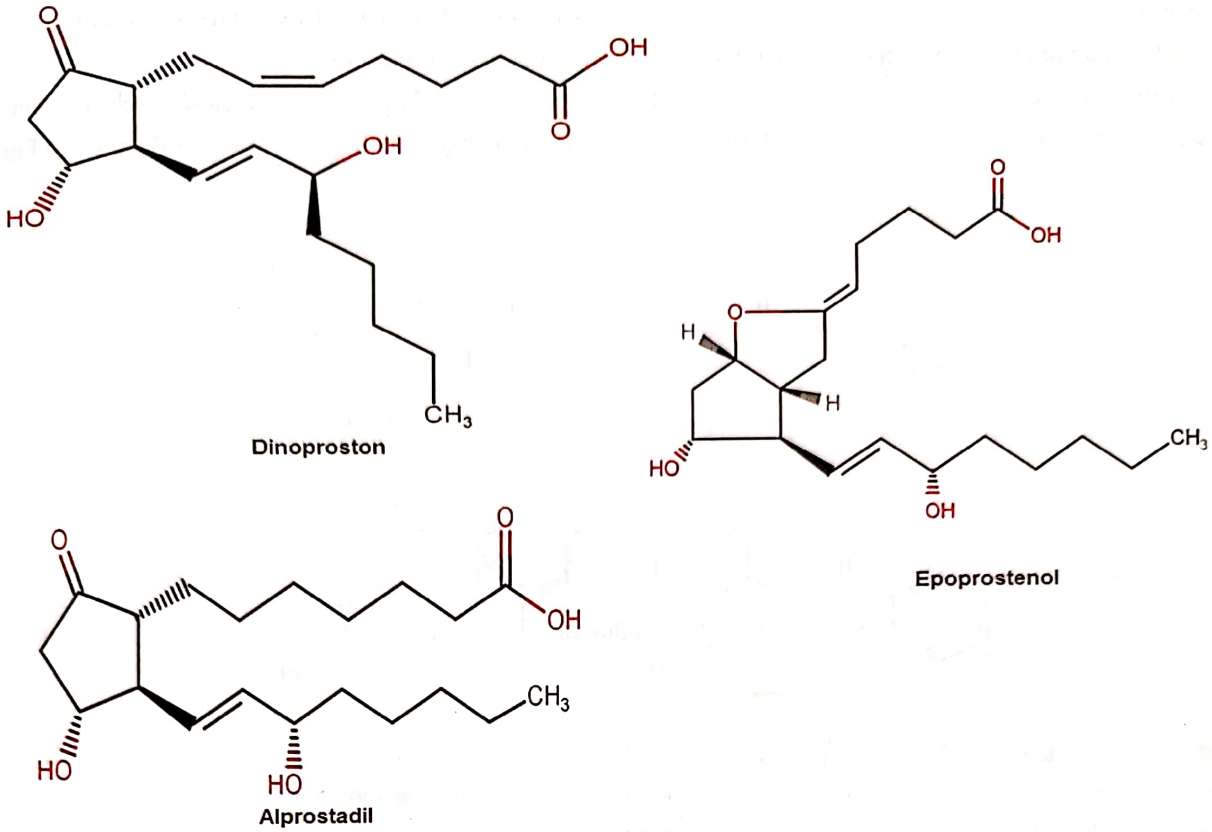


Fig. 11.9. Medicamente bazate pe structura prostaglandinelor

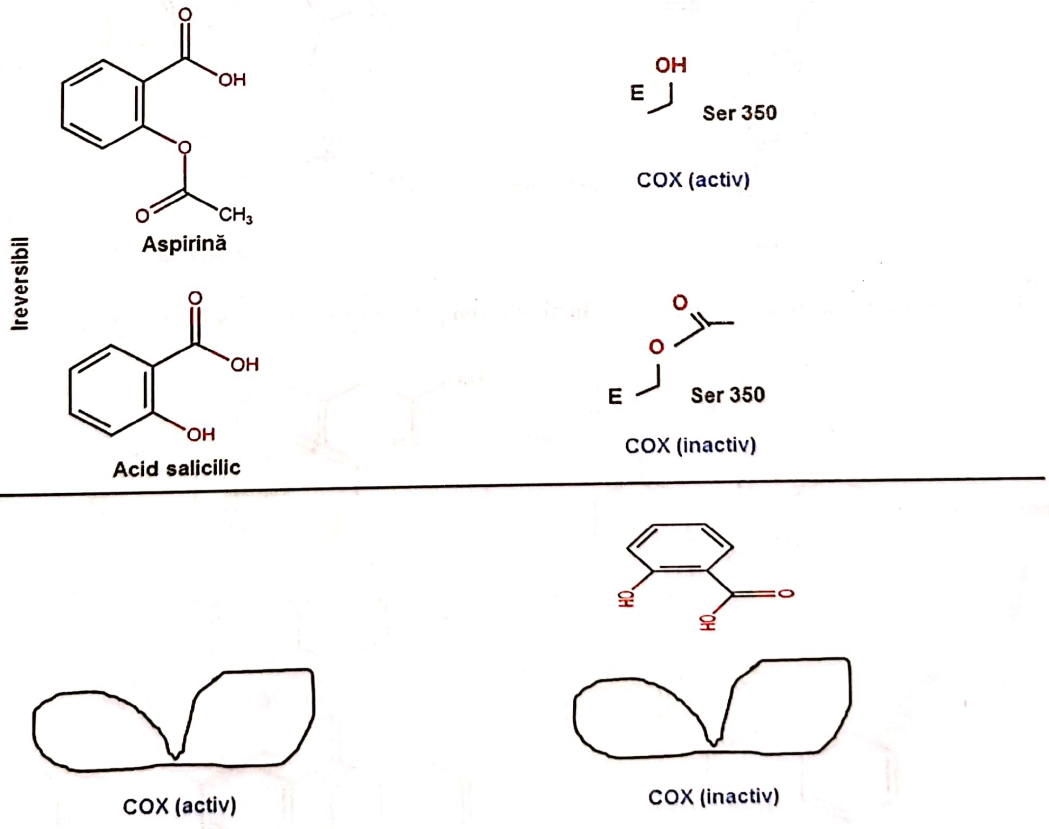


Fig. 11.10. Mecanisme de actiune ale agentilor anti-inflamatori. aspirina si acidul salicilic inhiba sinteza ciclooxigenazelor relativ nespecific si ireversibil

Scanned with OKEN Scanner

- Steroizi
- Anti-inflamatorii nesteroidiene (NSAIDs)

Prototipi de agenti anti-inflamatorii non-steroidali sunt **aspirina și acidul salicilic**. (Fig. 11.10)

Alți compuși cu structuri similare ai acidului salicilic sunt arătați în Figura 11.11.

Agenți anti-inflamatorii nesteroidieni selectivi pentru ciclooxigenaza II (COX-II) sunt ilustrați în Fig-

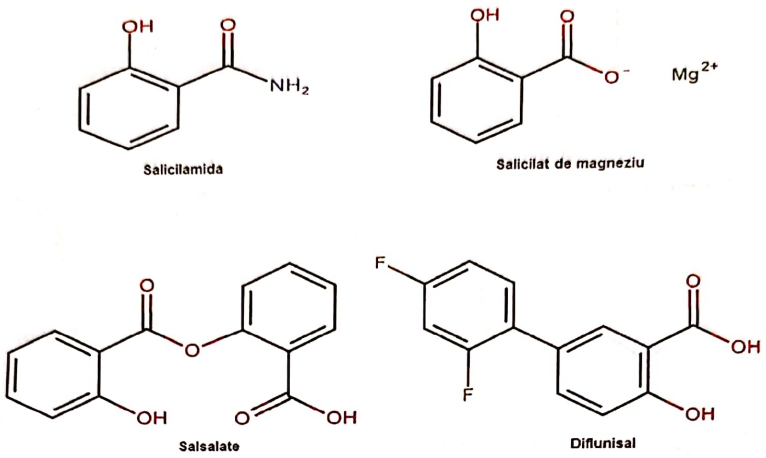


Fig. 11.11. Structuri de salicilati de uz medical

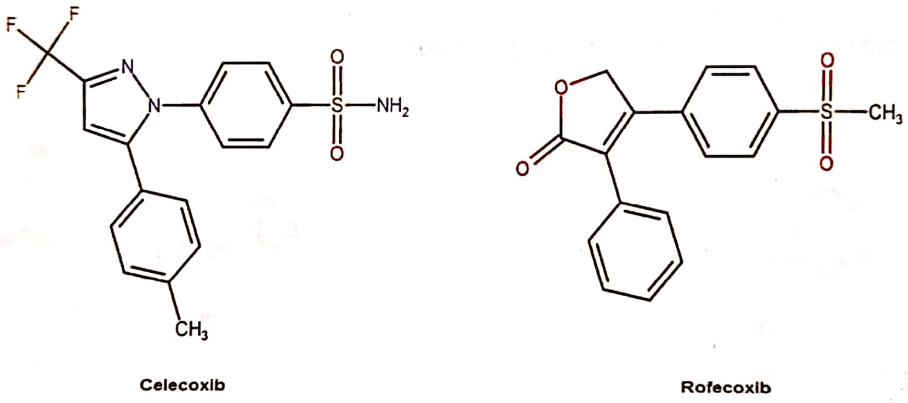


Fig. 11.12 Compusi anti-inflamatorii nesteroidieni selectivi pentru COX-II, celecoxib si refocoxib

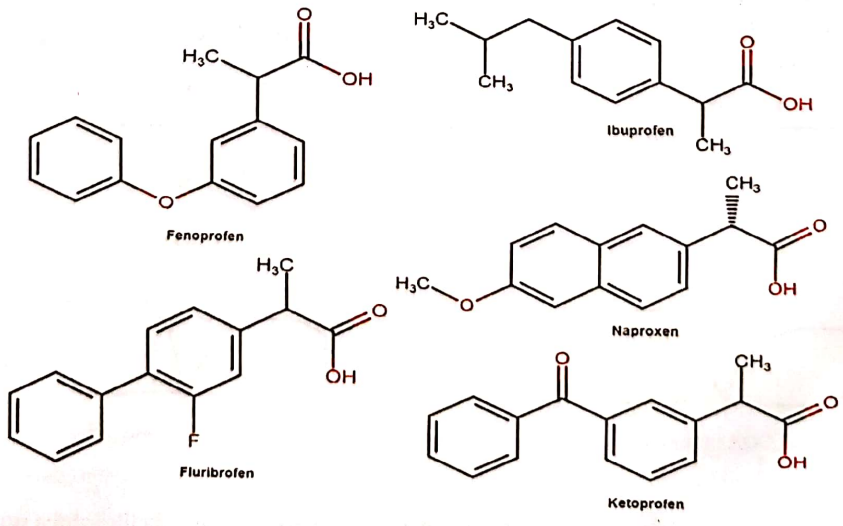


Fig. 11.13. Relatia Structura-Activitate anti-inflamatorie a unor compuși de importanța terapeutică

Scanned with OKEN Scanner

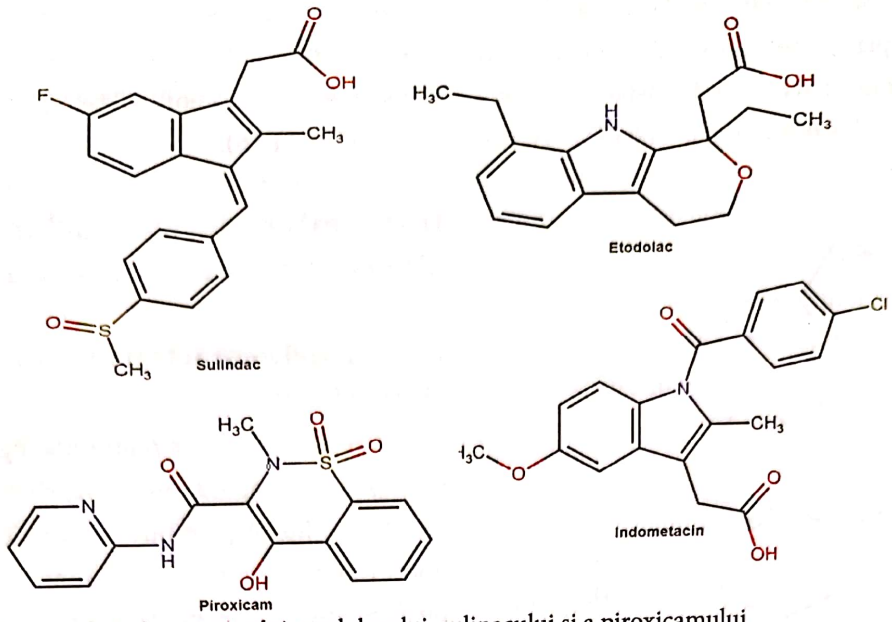


Fig. 11.14. Structurile indometacinului, rtodolacului, sulinacului si a piroxicamului

ura 11.12.

Între structura chimică şi activitatea fiziologică există o strânsă legatură ilustrată mai jos pentru Fenoprofen, Ibuprofen, Naxopren, Ketoprofen (Fig. 11.13).

O altă categorie de medicamente folosite cu succes în atenuarea inflamaţiei sunt compuşi din grupul indolilor cum ar fi indometacinul şi acizilor indenici, cum ar fi etodolacul (Fig. 11.14).

II. Reducerea reacţiei inflamatorii prin ate-

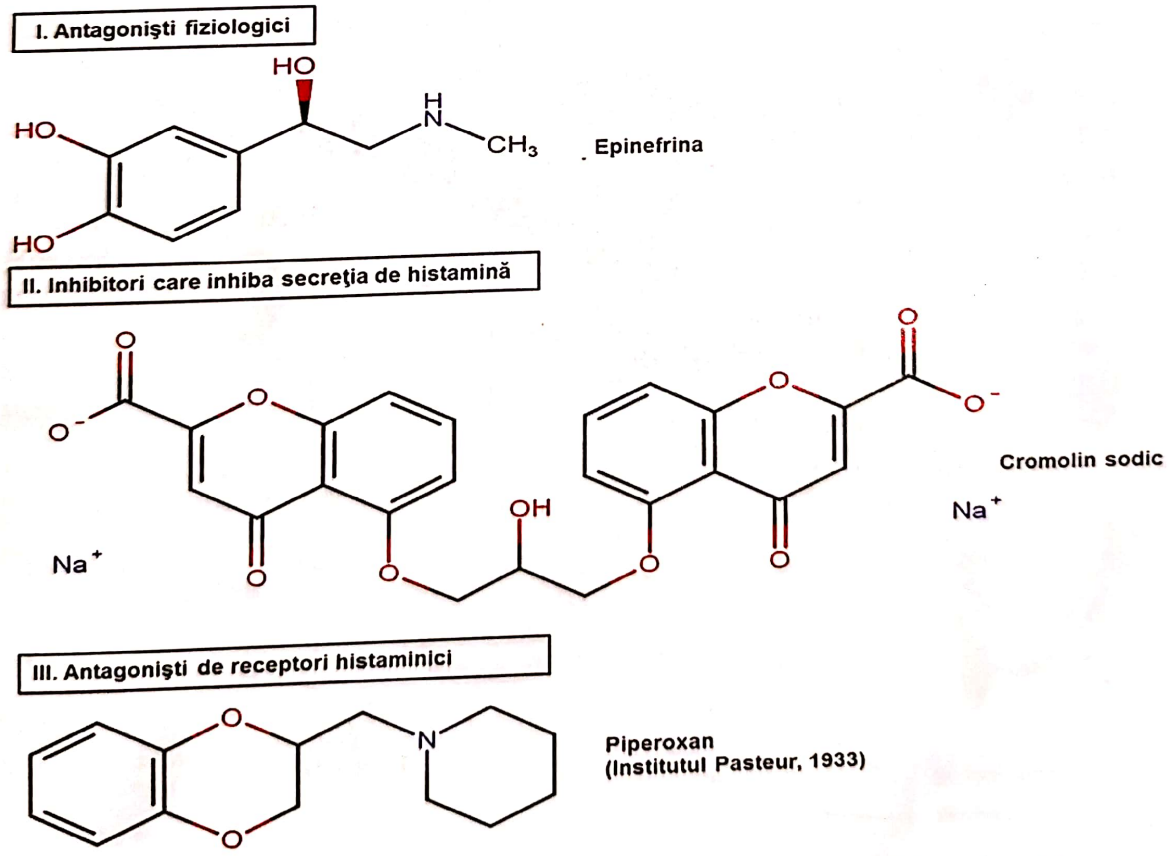


Fig. 11.15. Medicamente pentru reducerea reacţiei inflamatorii prin atenuarea mediatorilor inflamaţiei

Scanned with OKEN Scanner

nuarea mediatorilor inflamației la nivel de celulă target prin utilizarea de antagoniști fiziologici, inhibitorii secreției de histamină și antagoniști receptorilor histaminici. (vezi Fig. 11.15).

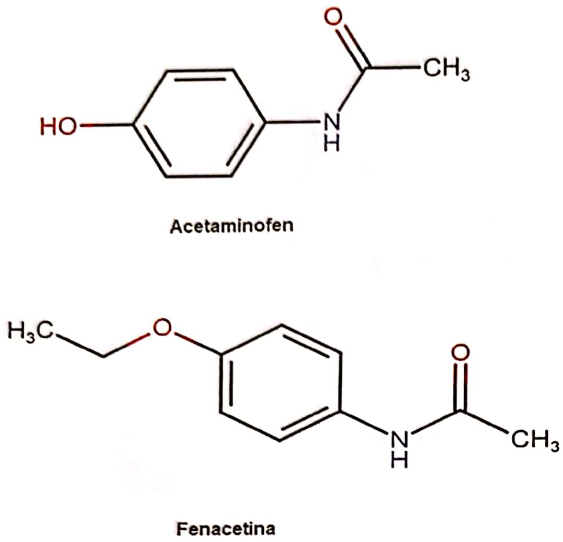


Fig. 11.16. Structura acetaminofenului și a fenacetinei

III. Inhibiția răspusului secundar inflamației în celule țintă și organe

Medicamente disponibile: Acetaminophen și fenacetina (Fig. 11.16).

Inflamația, ateroscleroza și afecțiunile arterei coronare.

Principalele caracteristici ale leziunilor aterosclerotice

Leziunile aterosclerotice reprezintă îngroșări ale intimei și este compusă din celule, elemente de țesut conjunctiv, lipide și resturi celulare. În stadiile inițiale, leziunile aterosclerotice sunt caracterizate de prezența unor celule de tip macrofagic încărcate cu lipide, "lipid-laden cells" localizate subendotelial, (Fig. 11.17). Interesant este că aceste macrofage încarcate cu lipide se găsesc preponderent la persoane

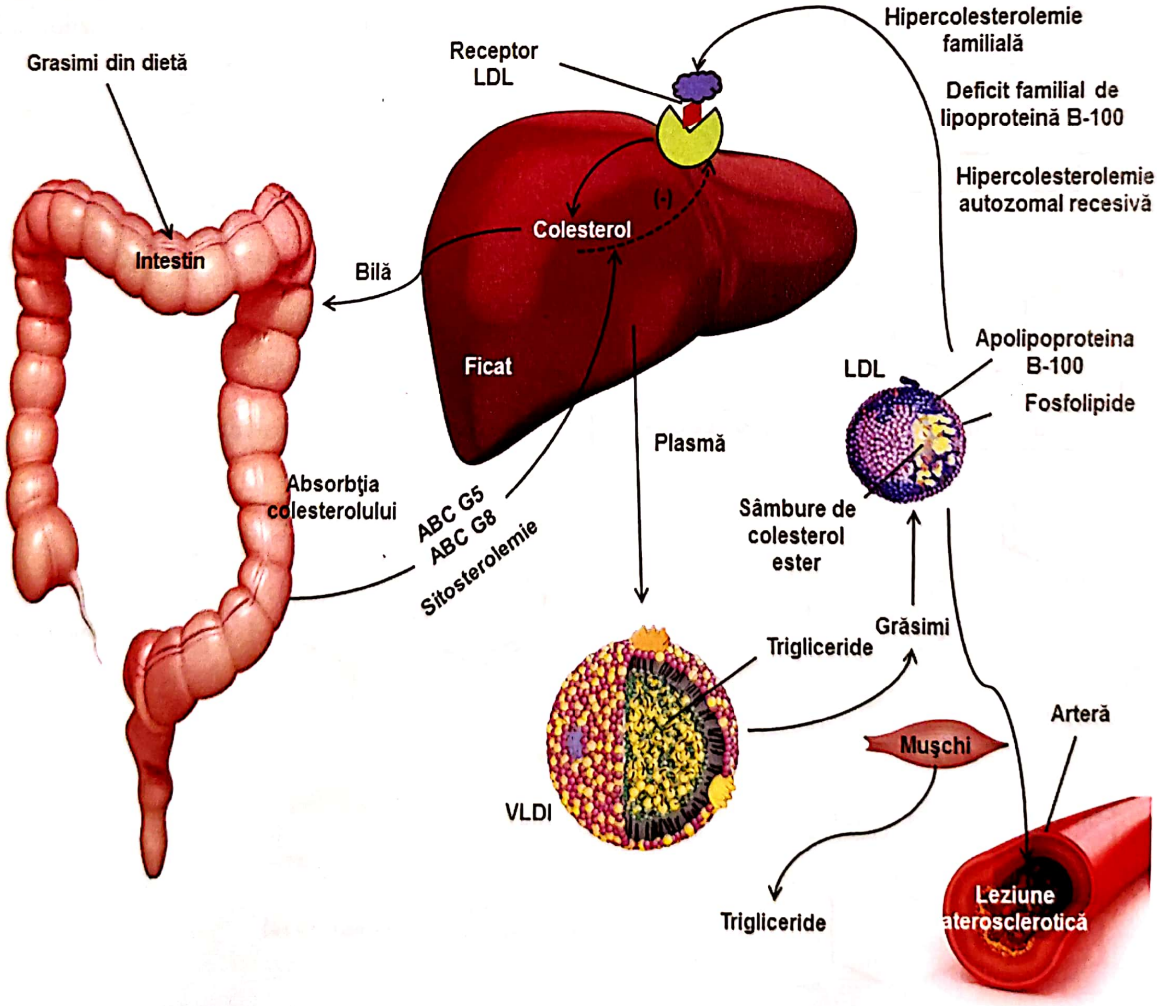


Fig. 11.17. Componentele de bază pentru sinteza și excreția colesterolului

Scanned with OKEN Scanner

tinere și pot progresa în plăci aterosclerotice odată cu înaintarea în vârsta sau pur și simplu pot dispărea. Placa aterosclerotică ajunsă la maturitate este formată din:

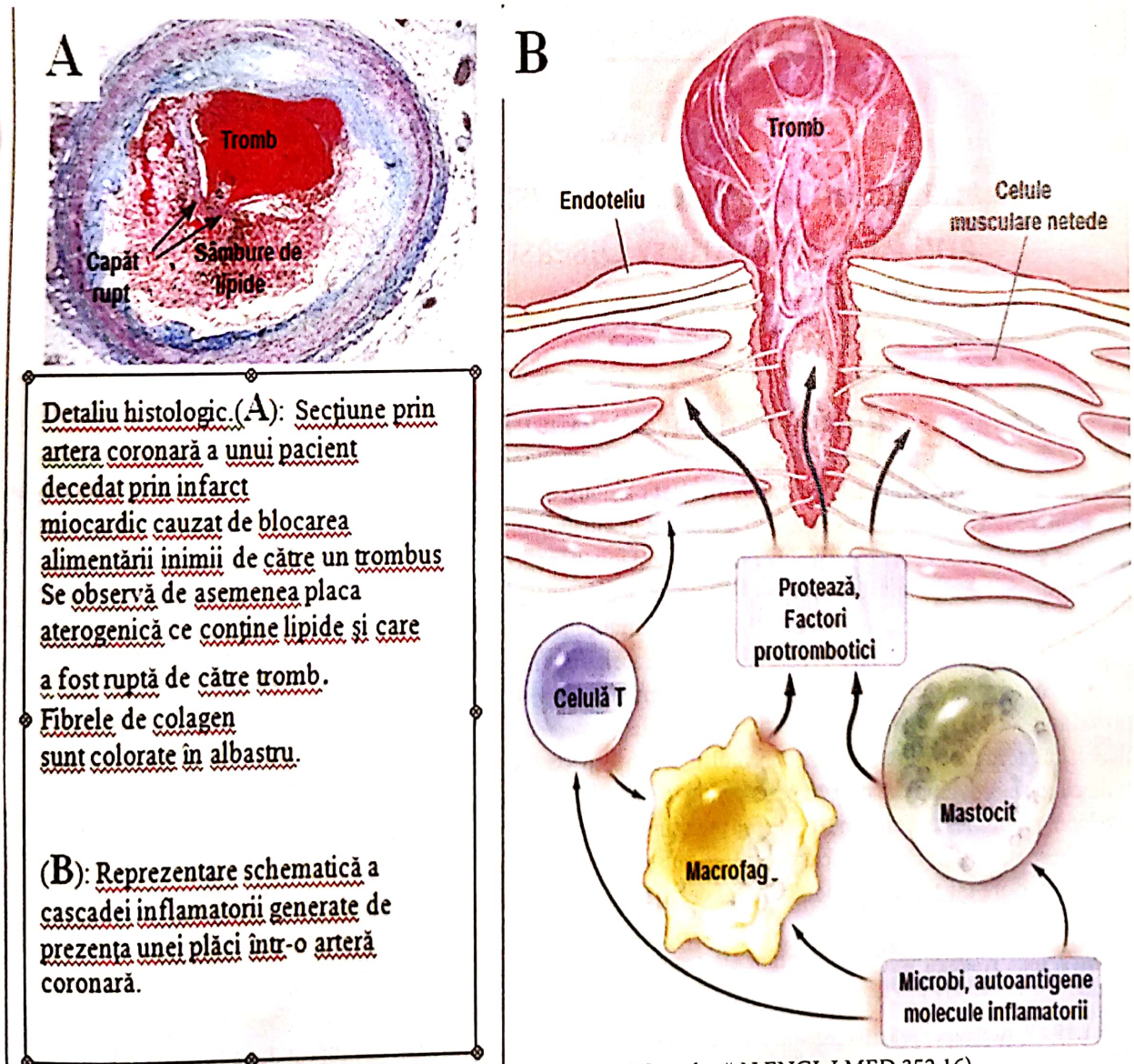
- *macrofage* incarcate cu lipide, "foam cells"
- *celule musculare netede* din endoteliu vascular
- *matrice de colagen*
- *celule imune de tip T*
- *celule mastocitare* care secretă histamina

Infarctul miocardic survine ca urmare a blocarii fluxului sanguin de către un trombus si nu este provocat în mod necesar de mărirea plăcii aterogenice.

În Fig. 11.18. este reprezentată schematic structura histologică a plăcii aterogene de la un pacient decedat prin infarct miocardic, precum și activarea cascadei inflamatorii generate de prezența unei plăci într-o arteră coronară.

Formarea de trombi în peretele arterelor mari are două cauze principale: ruptura plăcii aterogenice si erodarea endoteliului peretelui vascular. Ruptura placii aterogenice are loc în 70% din cazuri și expune conținutul plăcii celulelor sistemului imun generând o reacție pro-trombotică caracterizată de secreția de metalo- si cistein proteaze de către macrofage și celule mastocitare care destabilizeaza placa aterogenică.

Acest proces care va culmina cu eliberarea trombului ce poate astfel bloca circulația sanguină într-o arteră coronară și cauza infarctul miocardic (Fig 11.18.B)



Detaliu histologic (A): Secțiune prin artera coronară a unui pacient decedat prin infarct miocardic cauzat de blocarea alimentării inimii de către un trombus Se observă de asemenea placa aterogenică ce conține lipide și care a fost ruptă de către tromb. Fibrele de colagen sunt colorate în albastru.

(B): Reprezentare schematică a cascadei inflamatorii generate de prezența unei plăci într-o arteră coronară.

Fig. 11.18. Leziunea aterosclerotică într-o artera umană. (modificat după N ENGL J MED 352;16)

Scanned with OKEN Scanner

Factorii de risc pt ateroscleroza sunt:

- *Hipertensiunea arteriala*
- *Nivel ridicat de lipide circulante*
- *LDL*
- *Resturi de chilomicroni*
- *Resturi de VLD*
- *Nivel scazut de HDL*
- *Nivel ridicat al peptidei vasoconstrictoare*
- *Angiotensina II*
- *Fumatul*

Mecanisme moleculare responsabile de generarea plăcilor aterosclerotice

Studii efectuate pe model animal transgenic au arătat că deleția genei care codifică proteina apolipoproteina E (apoE-knockout mice) conduce la o hipercolesterolemie severă și ateroscleroză. Un efect similar îl are deletarea genei care codifică receptorul pt low density lipoproteins (LDL-R), efect ce este exacerbat de administrarea unei hrane bogate in grasimi (Fig. 11.19)

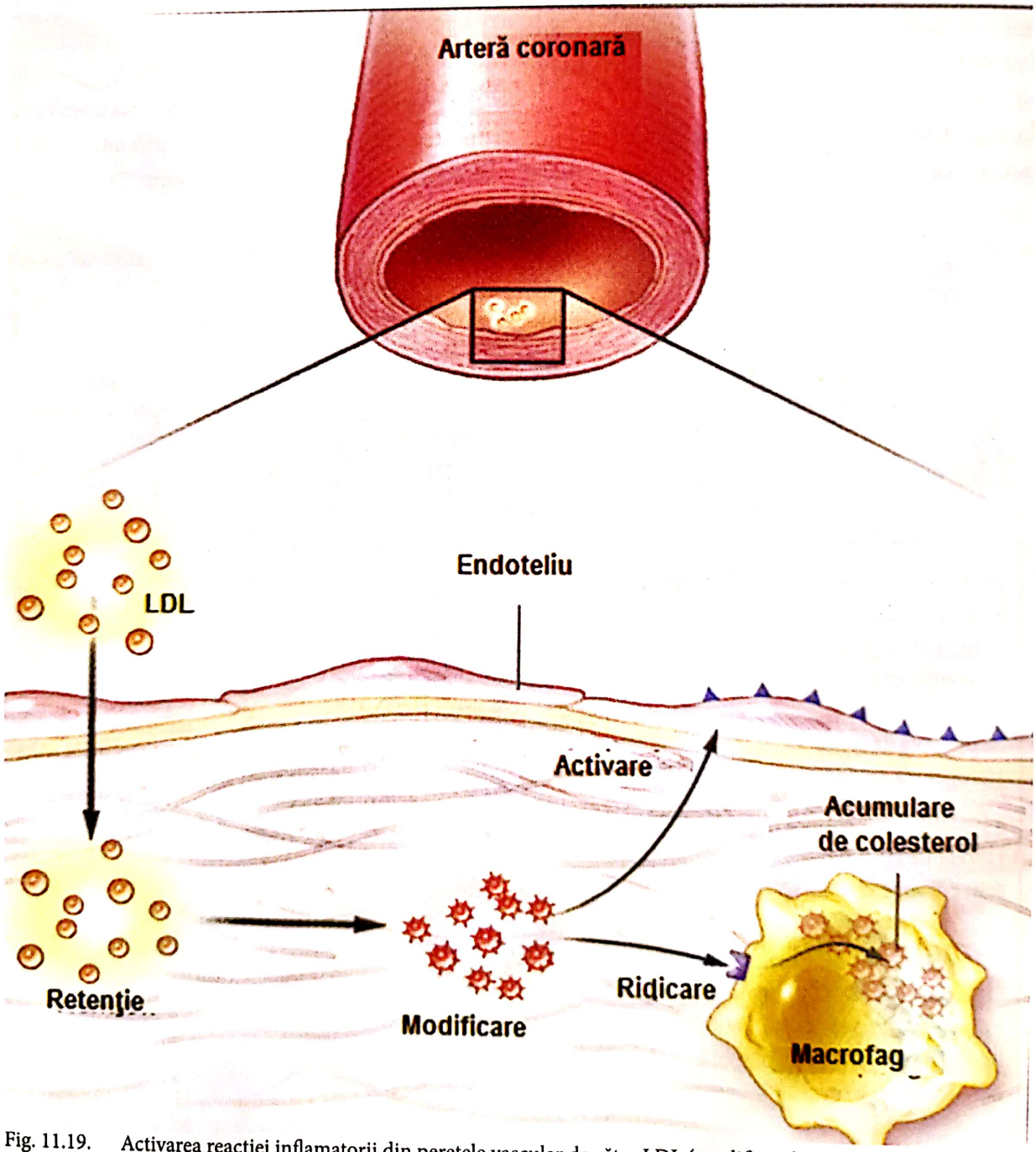


Fig. 11.19. Activarea reactiei inflamatorii din peretele vascular de către LDL (modificat după N ENGL J MED 352;16)

Scanned with OKEN Scanner

Astfel de modele permit studiul detaliat al etapelor formarii plăcilor aterosclerotice.

Prima etapa este:

I. Activarea endoteliului vascular în vase medii și mari de către hipercolesterolemie și stresul hemodinamic

În aceasta etapa, la *pacienți cu hipercolesterolemie* particulele în exces de LDL circulant se infiltrează în endoteliul vascular (intima) (Figura 11.20) cu precădere în locuri de presiune hemodinamică. În etapa urmatoare, particulele de LDL sunt oxidate intraarterial ceea ce determină fagocitarea lor de către macrofage prin intermediul unor receptori prezenți pe suprafața celulară care, acumuland astfel de particule oxidate se transformă în așa numitele celule „*foam*".

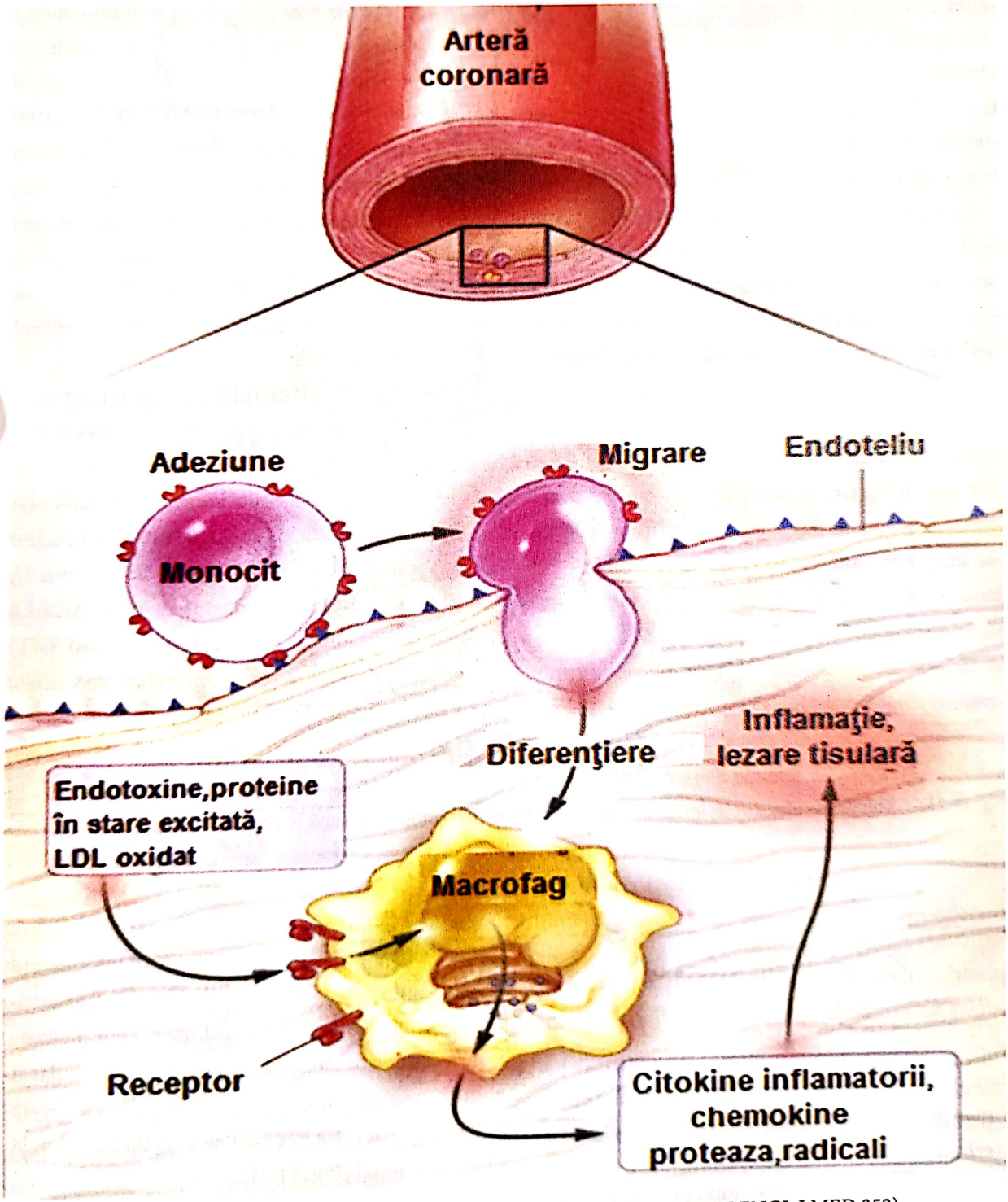


Fig. 11.20. Cascada citokinică în procesul inflamator al intimei (modificat după N ENGL J MED 352)

Scanned with OKEN Scanner

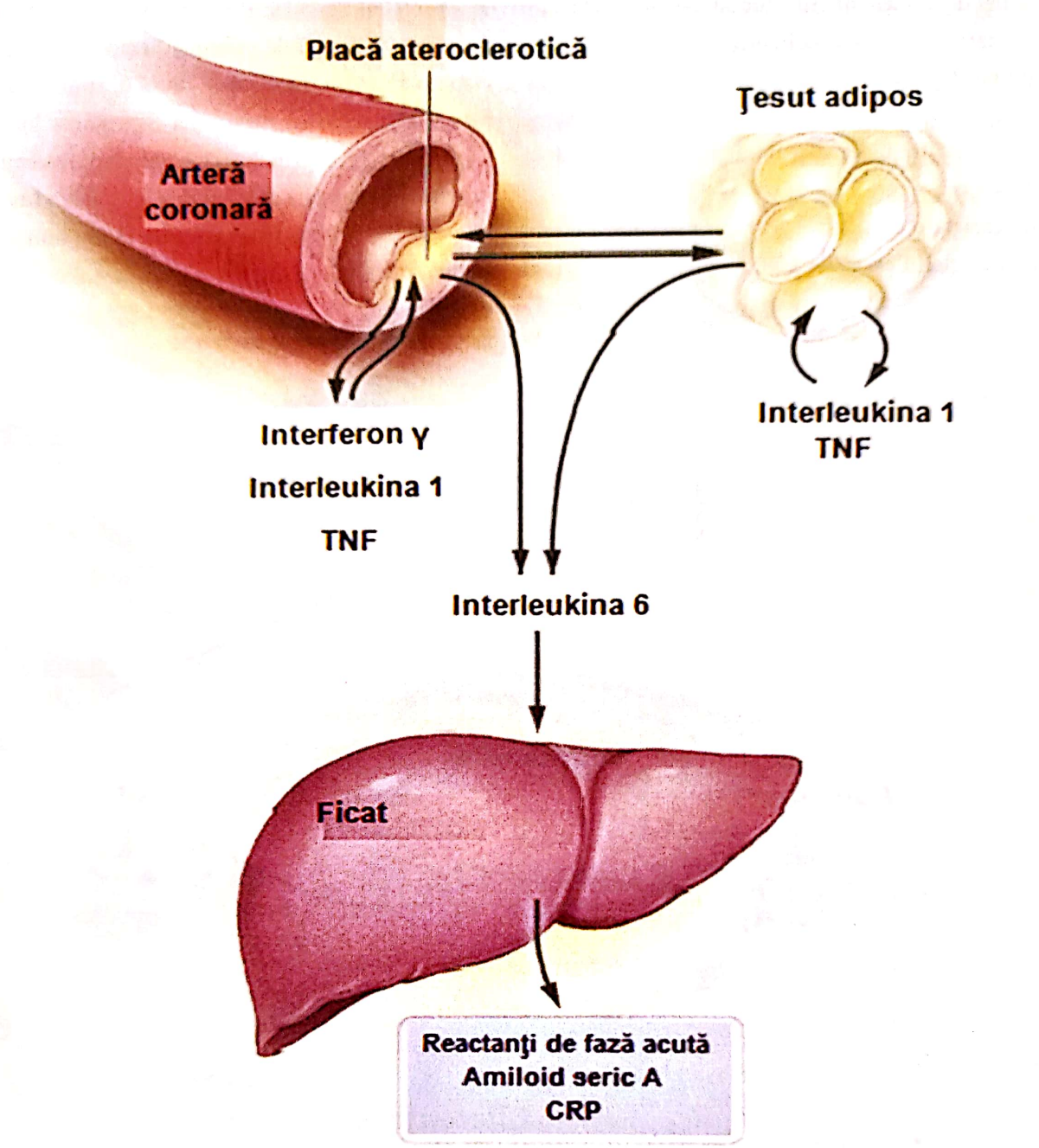


Fig. 11.21. Rolul macrofagelor în inflamația peretelui endotelial (modificat după N ENGL J MED 352;16)

Particulele oxidate de LDL pot activa și direct celule endoteliului vascular mai ales în locuri cu o hemodinamică nefavorabilă caracterizată de fluctuații rapide ale presiunii arteriale. Stresul hemodinamic ca atare poate de asemenea să activeze expresia genică a unor molecule inflamatorii și a unor molecule de adeziune.

Prezenta moleculelor de adeziune pe suprața endoteliului vascular determină în primul rand aderarea elementelor figurate din circulație prin intermediul receptorilor de tip GP Ib si GPIIb/IIIa. În urma activării trombocitelor are loc exprimarea altor molecule de adeziune pe suprafața peretelui endovascular și anume "*vascular adhesion molecule*", VCAM-1 care determină aderarea monocitelor și limfocitelor la peretele arterial (Fig. 11.21).

Intima inflamată produce o citokina, "macrophage colony-stimulating factor" M-CSF, care induce dif-

Scanned with OKEN Scanner

erențierea monocitelor în celule de tip macrofagic ce fagocitează LDL oxidat, endotoxine bacterii etc, și secretă componente ale reacției inflamatorii ca citokine, chemokine, metaloprotease, radicali liberi. Atunci când capacitatea de fagocitoza este depășită, colesterolul în exces se acumulează și duce la formarea celulei tipice plăcii aterogene, celula spumpoasă, "foam".

Celule imune activate din placa aterogenica secretă citokine inflamatorii (interferon-gamma, interleukina-1(IL-1), factorul necrotic tumoral (tumor necrosis factor, TNF) care la randul lor determina o secreție crescută de interleukina-6 (IL-6). IL-6 este transportata la ficat unde activează sinteza de reactivi specifici fazei acute a inflamației sistemice, *proteina C-reactivă (CRP), proteina amiloidica serica de tip A si fibrinogenul*. Aceste proteine sunt și markeri biochimice ai fazei acute.

Interacții între inflamatie și metabolism

Echilibrul între procesele inflamatori și anti-inflamatorii controlează progresia placilor aterosclerotice. Organismul poseda mecanisme de protectie care previn formarea acestor plăci prin sinteza de compuși cu proprietăți anti-inflamatorii cum ar fi interleukina-10 și factorul necrotic tumoral-beta (TNF-beta). Deleția genelor codificând aceste citokine anti-inflamatorii crește mult riscul formării plăcilor aterosclerotice. Factorii metabolici pot influența acest echilibru în primul rând prin:

- LDL
- Citokinele pro-inflamatorii, TNF si IL-6
- Adipokinele
- Lipide oxidate

Sinteza de LDL, dacă este în exces, inițiază procesul formării plăcilor aterosclerotice. Similar, citokinele pro-inflamatorii, TNF și IL-6 secretate de țesutul adipos în cazul pacienților care prezintă sindrom metabolic sau sunt obezi accelerează dezvoltarea plăcilor aterosclerotice prin stimularea diferențierii a monocitelor infiltrate în celule de tip macrofagic care în ultima instanță vor genera celulele spumoase, tipice plăcilor aterosclerotice.

Citokinele țesutului adipos, adipokine cum ar fi leptina, adiponectina și resistina pot de asemenea să moduleze formarea plăcilor aterosclerotice. În sfârșit, lipide modificate prin peroxidare pot de asemenea să accelereze formarea celulelor spumoase.

Patobiochimie

Procesul inflamatoriu din placa aterosclerotică induce sinteza de proteine specifice fazei acute a inflamației sistemice, *proteina C-reactivă* (CRP), proteina *amiloidica serică de tip A* și *fibrinogenul*. Aceste proteine sunt și markeri biochimice ai fazei acute și se determină în serul bolnavilor. De exemplu, concentrația serică a proteinei C-reactive și IL-6 sunt ridicate în infarctul miocardic și angina pectorală. Concentrația serică a proteinei C-reactive și IL-6 sunt însă normale în angina pectorală cauzată de vasospasm. Totuși acești markeri nu au valoare diagnostică decisiva pentru ca în timp organismul "*tolerează*" inflamația.

Pe langa acești factori de faza acută mai putem determina molecule specifice peretelui vascular inflamat cum ar fi *vascular cell adhesion molecule* (VCAM-1) și *selectina-P* (P-selectin) care sunt secretate de endoteliul inflamat. O problema majoră a acestor determinări este faptul că aceste molecule sunt produse local iar determinarea biochimică se face de regula în ser ceea ce duce la scăderea concentrației moleculelor adesive. Din aceste considerente procesul de formare a placilor aterosclerotice poare decurge asimptomatic.

Opțiuni terapeutice

Știind că ateroscleroza este un proces preponderent de natură inflamatorie, oferă automat opțiuni terapeutice bazate pe *medicamente anti-inflamatorii*. O opțiune este ciclosporina, un medicament imunosupresiv care blochează activarea celulelor T și în concentrații mai mari proliferarea celulelor din intimă. O altă categorie de medicamente cu acțiune anti-inflamatorie o constituie inhibitorii de ciclooxigenază și în general ai sintezei icozanoidelor .

Scanned with OKEN Scanner

Tab. 11.1. Costurile zilnice comparative pentru agenti anti-inflamatorii nesteroidali

Medicament	Doza/zi	Cox1/Cox2	Costuri (US $)
Ibuprofen	3-4	1	10.48
Naproxen	2	1	43.61
Diclofenac	2	1	54.47
Etodolac	2-3	1	76.18
Nabumetone	1	1	76.23
Piroxicam	1	1	68.21
Meloxicam	1	4	59.40
Celecoxib	1	7	75.00
Rofecoxib	1	35	77.70
Valdecoxib	1	30	85.80

Din nefericire, acţiunea lor este pleiotropică, interferând cu enzime implicate în sinteza icozanoidelor cu caracter pro-trombotic din plachete sanguine şi sinteza icozanoidelor cu acţiune anti-trombotică din celulele endoteliale din peretele vascular. (Tabel. 11.1.). Din acest motiv un astfel de medicament, Vioxx, un inhibitor al ciclooxigenazei-2 a fost retras de pe piaţă după ce s-au înregistrat mai multe cazuri de deces.

A treia categorie de medicamente sunt statinele care acţionează în primul rand la nivel de sinteza de colesterol blocând producţia de acid mevalonic (Fig. 11.22). Efectele benefice adiţionale ale statinelor se bazeză pe efectul anti-inflamator. De exemplu, atorvastatina este folosită pentru ameliorarea stării pacienţilor cu *encefalomielita autoimuna* şi a pacienţilor suferind de artrita reumatică şi se crede că acţiunea benefică se datorează inhibării activării celulelor T.

A patra categorie de medicamente aflate în faza de testare clinică sunt bazate pe anihilare imunologică (vaccinare). De exemplu, s-a reuşit reducerea aterosclerozei prin administrare de LDL oxidat sau proteine din categoria "*heat shock*". Se crede că actiunea lor se bazează pe diminuarea activării celulelor T.

Totuşi, sunt necesare cercetări suplimentare pentru a stabili efectele de lungă durată asupra pacienţilor înainte de introducerea în practica zilnică clinică.

Mediatorii celulari ai inflamației

Mediatorii celulari ai inflamaţiei sunt elemente din circulaţie reprezentate de: leucocite polimorfonucleare, limfocitele, plachetele sanguine, monocitele, factori de coagulare, complementul, kininogenul, eozinofile, bazofile (Fig. 11.23, 11.24).

Componentele esenţiale ale inflamaţiei acute sunt reprezentate de:

- Evenimente vasculare
- Evenimente celulare
- Mediatori chimici

Scanned with OKEN Scanner

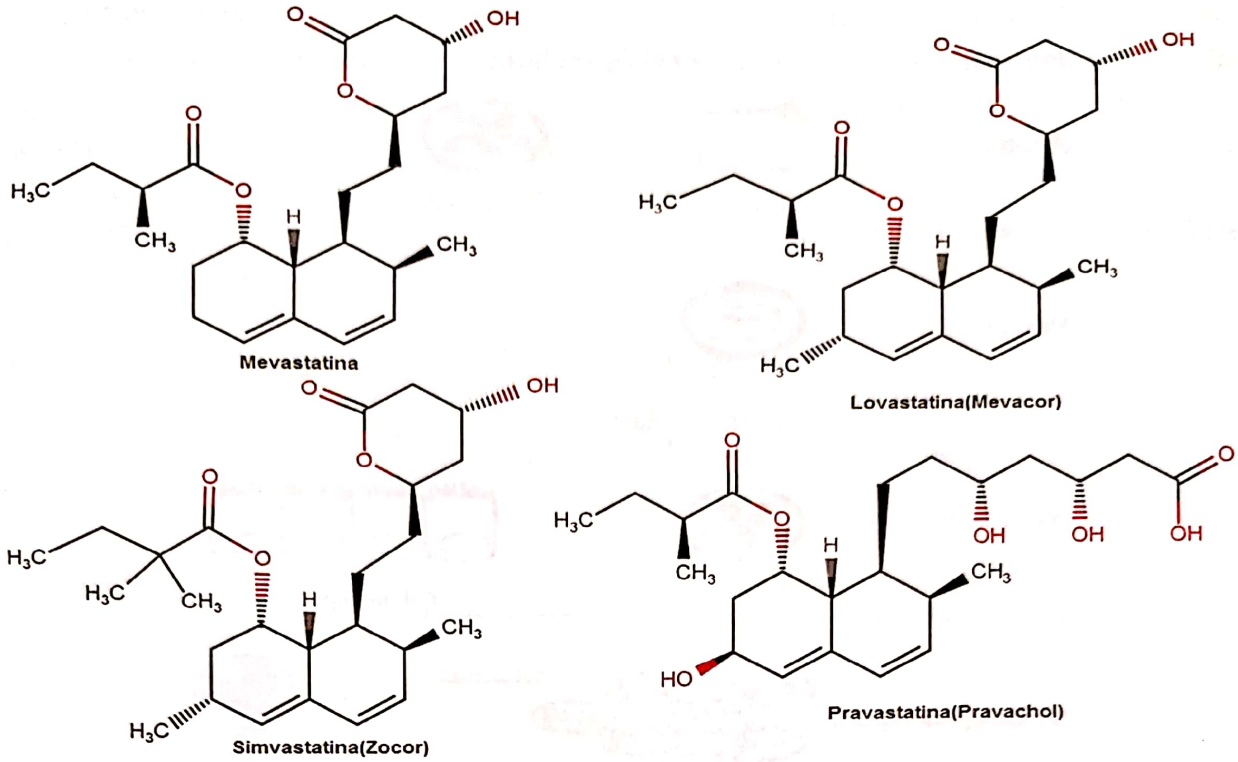


Fig. 11.22. Statine, strucura și compuși analogi folosiți în terapia medicală

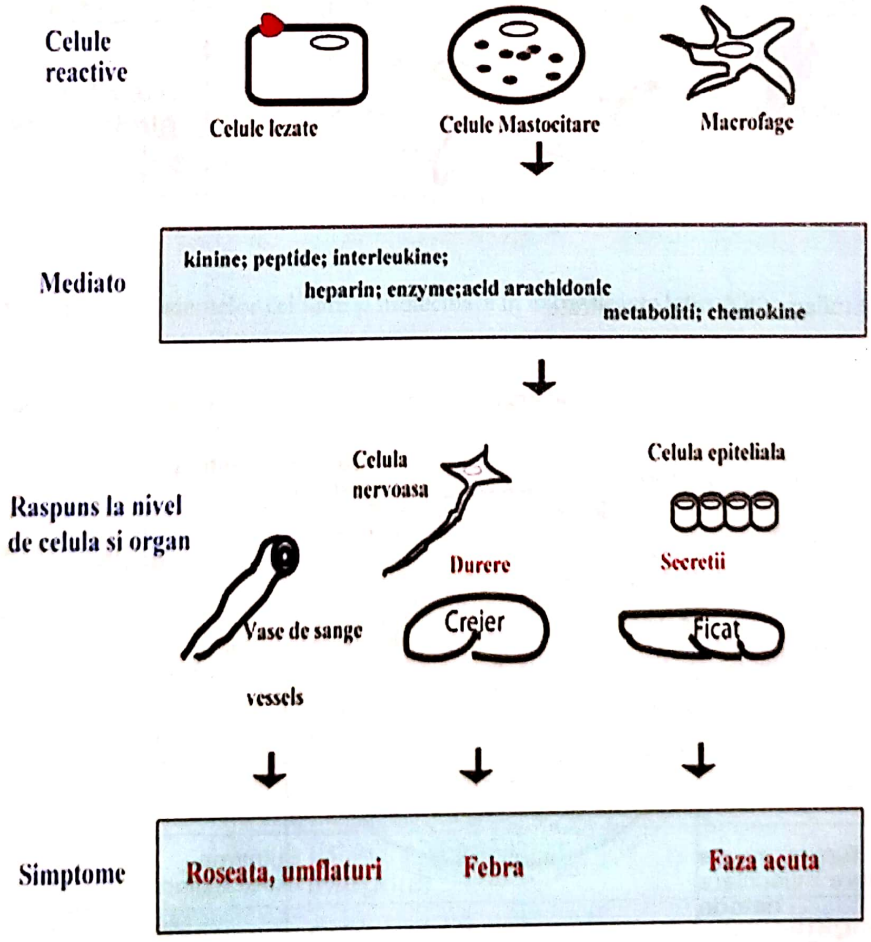


Fig. 11.23. Mediatorii celulari ai inflamației

Scanned with OKEN Scanner

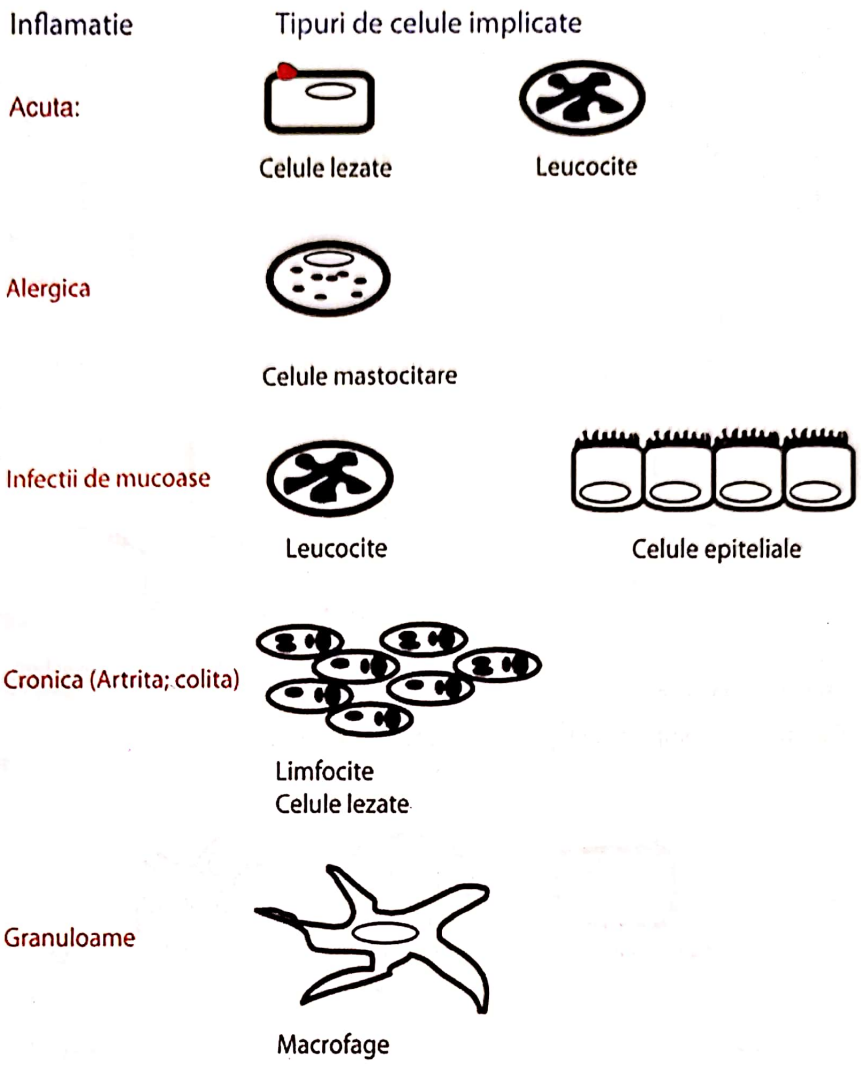


Fig. 11.24. Tipuri de inflamație și celule implicate

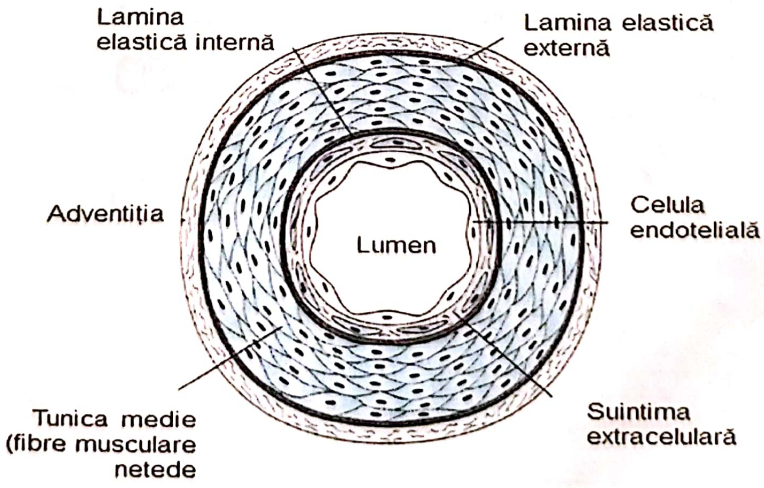


Fig 11.25. Structura scheletică a unui vas mare (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Evenimente vasculare

Structura schematică a unui vas mare este aratată în Fig. 11.25.

Secvența evenimentelor celulare și moleculare în extravasarea leucocitelor pot fi sumarizate astfel (vezi Fig. 11.26):

1. *Apropierea de peretele vascular*
2. *Rolling*
3. *Aderare la peretele vascular*
4. *Transmigrare (diapedesis)*
5. *Migrare catre factori chemotactici (chemotaxis)*

Apropierea de peretele vascular, rolling-ul și aderarea la peretele vascular este mediată de proteine speciale cu proprietăți adezive prezente pe suprafața leucocitelor și a celulelor endoteliale din peretele vascular.

Din categoria proteinelor adezive fac parte (Tabel 11.2.):

- Selectinele
- Integrinele
- Imunoglobulinele
- Mucinele (Glicoproteine)

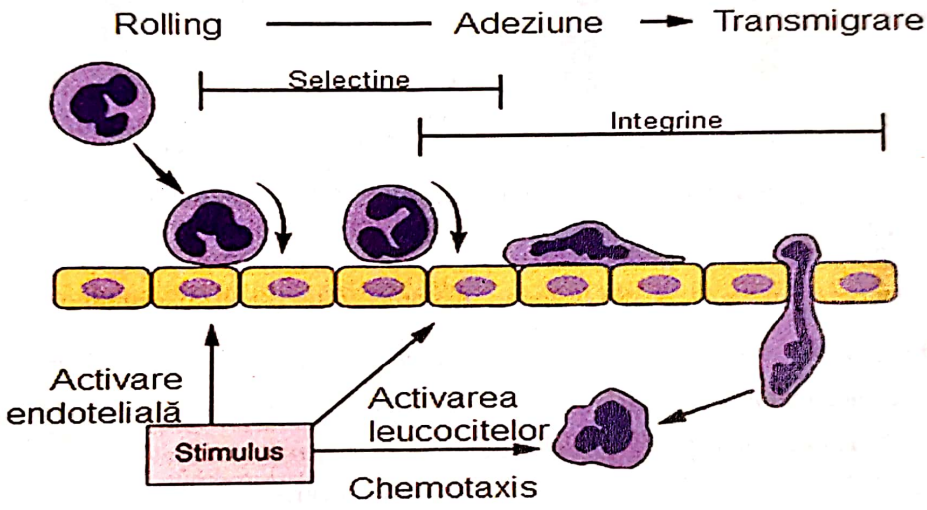


Fig. 11.26. Secvența evenimentelor celulare și moleculare în extravasarea leucocitelo

Tab. 11.2. Rolul perechilor de molecule de adeziune în inflamație

Molecula Endotelială	Molecula Leucocitară	Rol în inflamație
P - selectin	Sialyl - Lewis X	Rolling
E - selectin	Sialyl - Lewis Y	Rolling
GlyCam - 1/CD34	L - Selectin	Rolling
VCAM - 1	VLA - 4 integrin	Adeziune
ICAM - 1	LFA - 1 & MAC -1 integrins	Adeziune
PECAM - 1	PECAM - 1	Transmigrare

Scanned with OKEN Scanner

Selectinele se leagă selectiv de resturi zaharidice, de aici și denumirea în engleza:

Selected + Lectins (glucid) = Selectins

Selectinele sunt prezente pe suprafața:
- *celulelor endoteliale (E-Selectin)* (Fig. 11.27)
- *leucocitelor (L-Selectin)*
- *plachetelor sanguine (P-Selectin)*

Proprietăți specifice selectinelor:
- Se leagă de anumite resturi zaharidice (ex. Sialyl-Lewis X pe leucocite)
- Legatura este slabă, ne-covalentă
- Sunt prezente în concentrație mică pe suprafața celulelor din endoteliu vascular.
- În timpul inflamației concentrația lor crește dramatic după stimulare cu mediatori specifici cum ar fi *histaminele si trombina.* (Fig. 11.28).

Imunoglobulinele sunt prezente pe suprafața celulelor endoteliale și mediază adeziunea ferma prin legarea de receptori prezenți pe suprafața leucocitelor numiti "*integrine*". Reprezentanți ai clasei:
- *ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1*
- *VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1.*

Receptorii de tip integrine sunt specifici:
- pentru ICAM-1, integrina LFA-1 si Mac-1
- pentru VCAM-1, integrina VLA-4

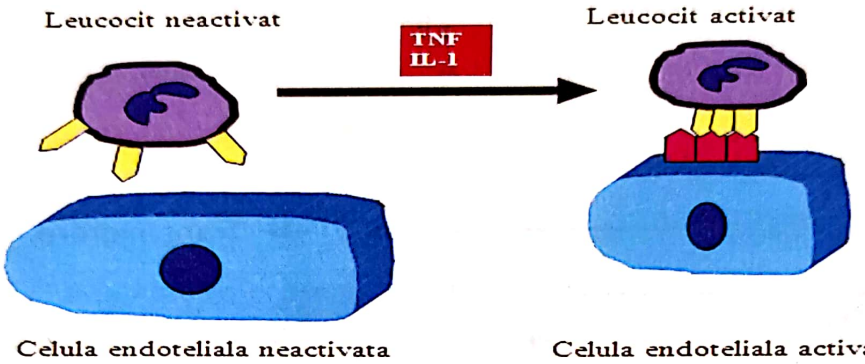


Fig. 11.27. Expresia proteinelor de adeziune, E-Selectins, ICAM-1 si VCAM-1 pe celulele endoteliale, pot fi induse de citokine cum ar fi interleukina-1 (IL-1) factorul necrotic (TNF).

Integrinele sunt proteine necesare pentru formarea unei legături de adeziune stabile și sunt prezente pe suprafața leucocitelor.

Tipuri de integrine:
1. VLA-4 beta 1
2. LFA-1 beta 2
3. Mac-1 beta 2

Mod de acțiune: Integrinele interactionează cu receptorii corespunzători prezenți pe suprafața celulelor endoteliale
- ICAM-1
- VCAM-1

Important: Integrinele de pe suprafața leucocitelor devin adesive numai după activare de către mediatori chimici cum ar fi complementul (C5a)

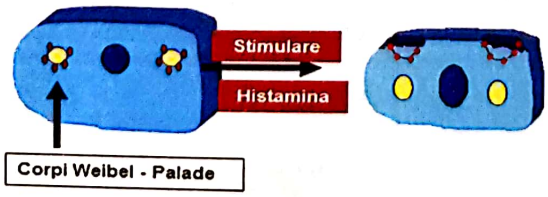


Fig. 11.28. Localizarea și redistribuția P-Selectinelor în urma stimulării

Localizarea și redistribuția P- Selectinelor în urma stimulării

P-Selectinele sunt prezente în celula endotelială în stare inactivă și sunt localizate pe așa-numiții "*Weibel-Palade bodies*". În urma stimulării cu histamină și trombină are loc redistribuirea P-Selectinelor la

Scanned with OKEN Scanner

suprafața celului.

Expresia proteinelor de adeziune, E-Selectins, ICAM-1 si VCAM-1 pe celulele endoteliale, pot fi induse de citokine cum ar fi *interleukina-1* (IL-1) *factorul necrotic* (TNF).

La locuri ce prezintă inflamație celulele endoteliale exprimă în urma stimulării de către histamine și trombină concentrații mai mari de proteine de adeziune cum ar fi:

- *E-selectin*
- *P-selectin*

În etapa urmatoare are loc fenomenul de „*Rolling*": legarea temporară ("hit & run") prin legături slabe a monocitelor la selectinele de pe suprafata endoteliului vascular (Fig. 11.29.)

În pasul III, neutrofilele sunt stimulate de către agenti chemotactici cum ar fi chemokinele și complementul 5 și exprimă integrinele pe suprafața activată.

În pasul IV, între integrinele de pe suprafața leucocitelor și imunoglobulinele de pe suprafața endoteliului vascular activat se formează o legatură fermă.

Chemotaxia

Este procesul de atracție a celulelor către un mediator chimic produs în aria de inflamație.

Factorii chemotactici importanți pentru neutrofile pot fi *exogeni* și *endogeni*:

Exogeni:

– Produse bacteriene cum ar fi N-formyl-metionina

Endogeni

- Leucotrine B4 (LT-B4)
- Complement C5a
- Alpha Chemokina (interleukina-8; IL-8)

Mecanismul molecular al chemotaxiei

Agentul chemotactic se leagă de un receptor membranar cuplat cu Proteina G pe leucocite și inițiază o cale de semnalizare care va activa expresia genică la nivel de nucleu. În pasul V, leucocitele migrează cu ajutorul pseudopodelor.

Transmigrarea leucocitelor prin stratul celular endotelial este facilitată de prezența pe suprafața leucocitelor și endoteliului vascular a unei categorii

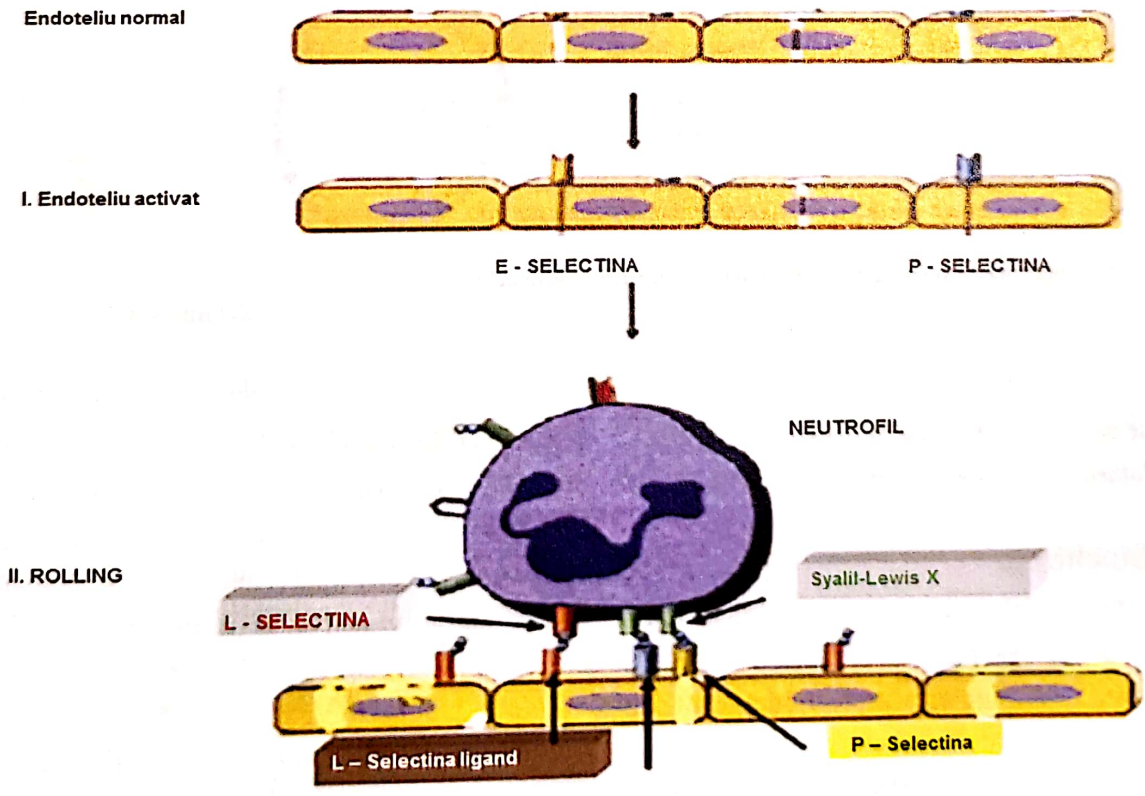


Fig. 11.29. Legarea temporară ("hit & run") prin legături slabe a monocitelor la selectinele de pe suprafata endoteliului vascular

Scanned with OKEN Scanner

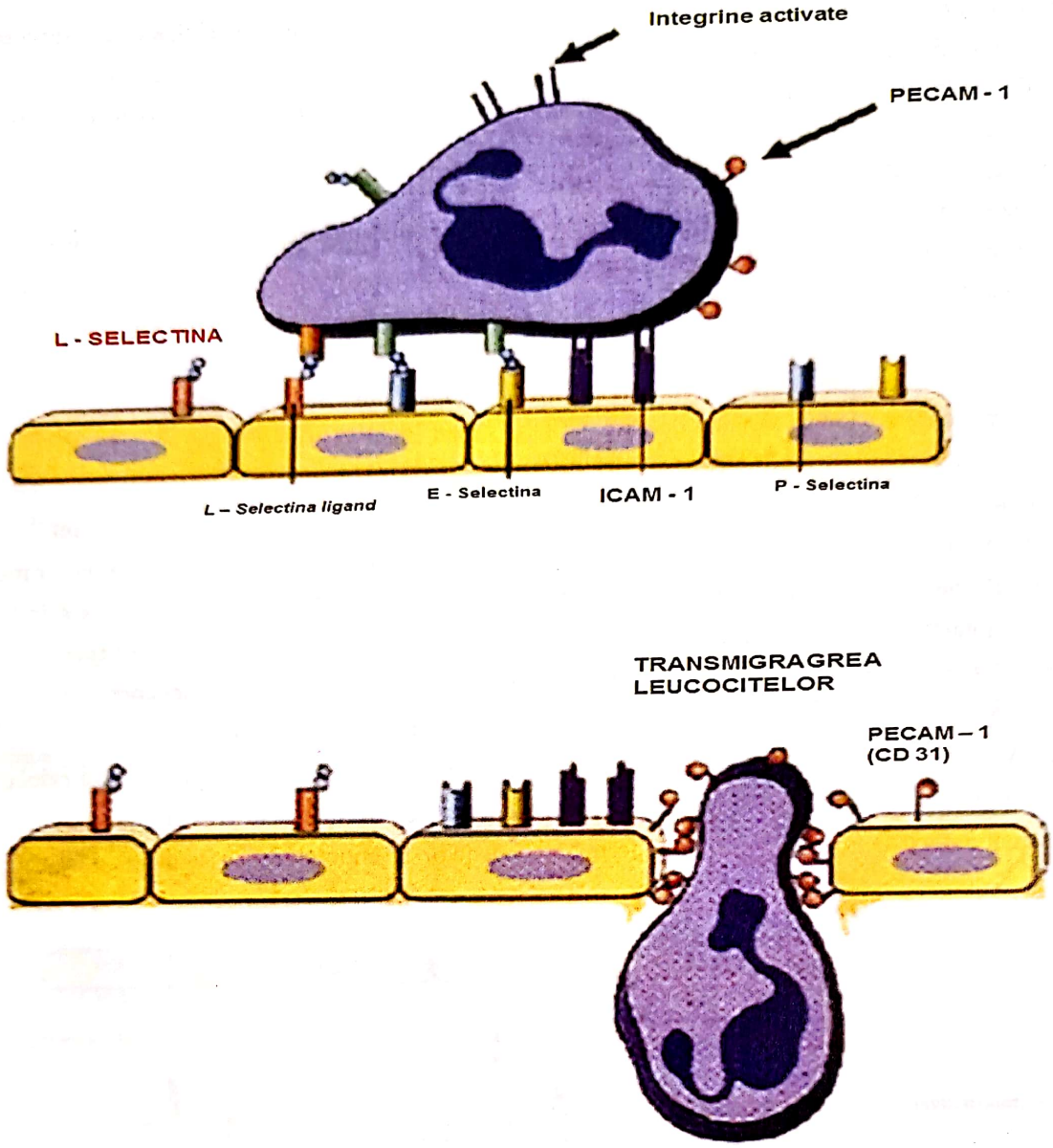


Fig. 11.30. Chemotaxia și transmigrarea leucocitelor prin stratul celular endotelial

speciale de proteine numite *PECAM-1* (de la "*platelet endothelial cell adhesion molecule 1*") (Fig. 11.30).

Patobiochimie

Artrita reumatoidă este o arteropatie inflamatorie cronică distructivă pentru care actual nu există tratament. În stări de inflamație cronică, există un dezechilibru între mediatori care initiaza inflamatia si cei care o stopeaza. Acest dezechilibru va duce la leziuni celulare. În cazul artritei reumatoide, acest dezechilibru se manifestă prin distrugerea cartilaju-lui și a osului.

Membrana sinovială la pacienții cu poliartrită reumatoidă este caracterizată prin hiperplazie, creșterea vascularizatiei și infiltrarea celulelor inflamatorii, în principal celule T CD4 +, care sunt orchestratorul principal al răspunsurilor imune mediate celular (Fig. 11.31).

Mediatorii celulari ai inflamației articulațiilor

Celulele T $CD4^+$ activate de antigen stimulează monocitele, macrofagele și fibroblastele sinovialecare

Scanned with OKEN Scanner

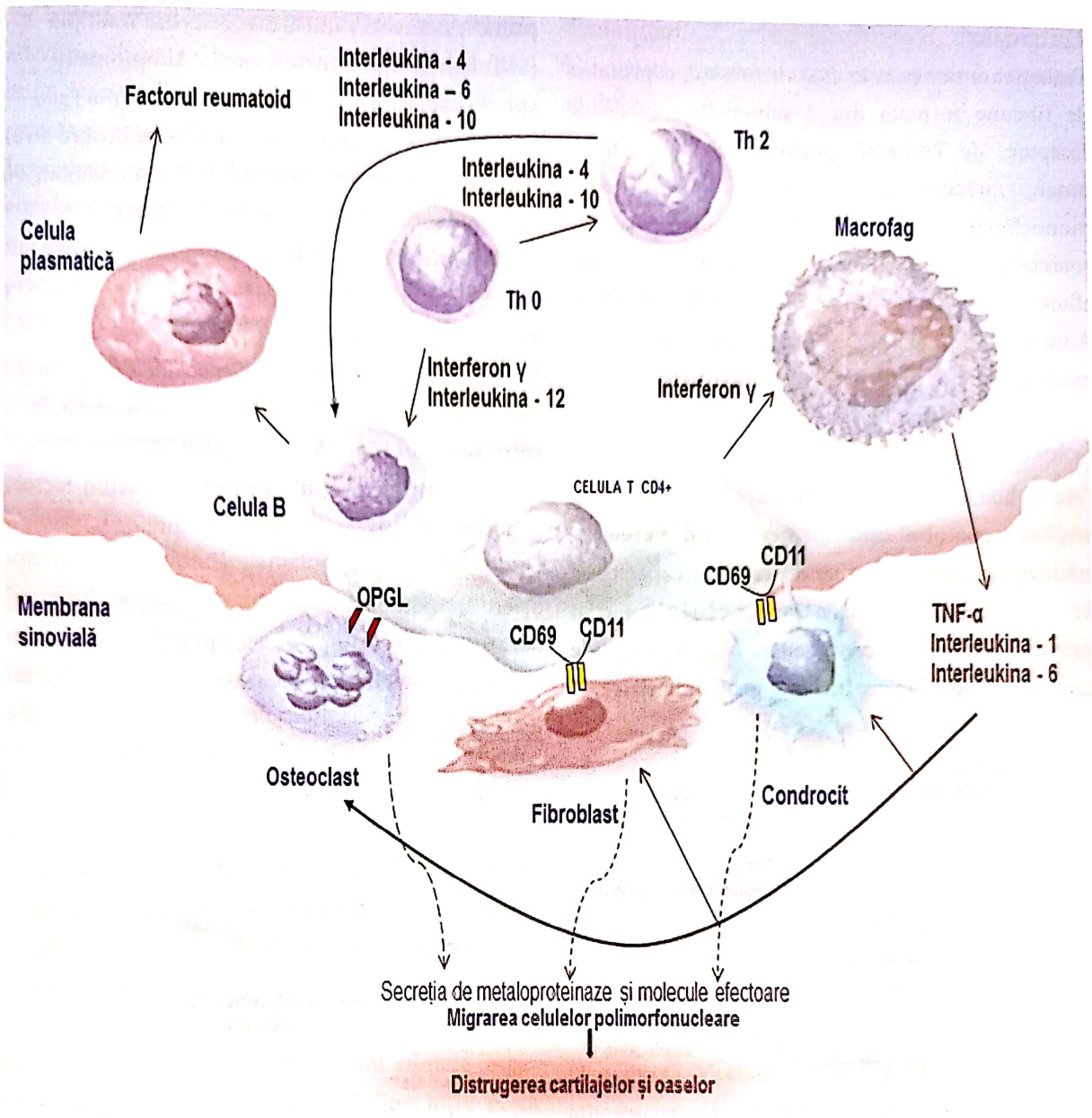


Fig. 11.31. Mecanismul de producere al artritei reumatoride

vor produce citokinele, interleukina-1, interleukina-6 și TNFa și secreta metaloproteinaze mat riceale prin semnalizarea celulară de suprafață, prin intermediul CD69 și CD11 precum și prin eliberarea de mediatori solubili precum interferon și interleukina 17. Interleukina-1, interleukina-6 și TNFa sunt citokine cheie care sunt responsabile de procesul inflamator în artrita reumatoidă.

Celulele T CD4⁺ activate stimulează, de asemenea celulele B, prin contact la suprafața celulară și prin legarea de alfa, beta integrină, CD154 (ligand ul CD40) și CD28, pentru a produce imunoglobuline, inclusiv factorul reumatoidic.

Rolul patogenic precis al factorului reumatoidic este necunoscut, dar poate implica activarea complementului prin formarea de complexe imune. Celulele T CD4 + activate, exprimă liganzi ai osteoprotegerinei care stimulează osteoclastogeneza. Astfel de celule T activate au provocat distrugerea articulațiilor într-un model animal de artrită reumatoidă.

Scanned with OKEN Scanner

Tratament

Tratamente noi cum ar fi etanerceptul, o proteină de fuziune formată din 2 subunități solubile de receptor de TNFa si portiunea Fc de la IgG1 uman, precum și infliximab, un anticorp monoclonal chimeric (celule umane și de șoarece), ambele neutralizand TNFa cu mare eficiență, au fost aprobate de Food and Drug Administration și Oficiul European de evaluare a medicamentelor pentru artrita reumatoidă.

Scleroza multiplă

Este o boală inflamatorie în care este deteriorat învelișul izolator al celulelor nervoase din creier și măduva spinării perturbând astfel capacitatea de comunicare dintre celulele din sistemul nervos ceea ce va genera o gamă largă de simptome neurologice, inclusiv probleme fizice, psihice, și uneori psihi atrice. Scleroza multiplă (SM) ia mai multe forme, cu noi simptome care apar în atacuri izolate (SM forma re-curentă) sau dezvoltate de -a lungul timpului (forme progre sive). Între atacuri, simptomele pot disparea complet; cu toate acestea, de multe ori apar probleme neurologice permanente, mai ales odată cu avansarea bolii.

În timp ce cauza nu este clarămecanismul de baza este considerat a fi *distrugerea* tecii de mielina de către sistemul imunitar sau *deficitul producerii de mielină*. Cauzele propuse pentru SM includ factori genetici, infectii, sau factori de mediu.

Scleroza multi plă este de obicei diagnosticată pe baza semnelor și simpto-melor prezente și a rezultatelor analizelor medicale

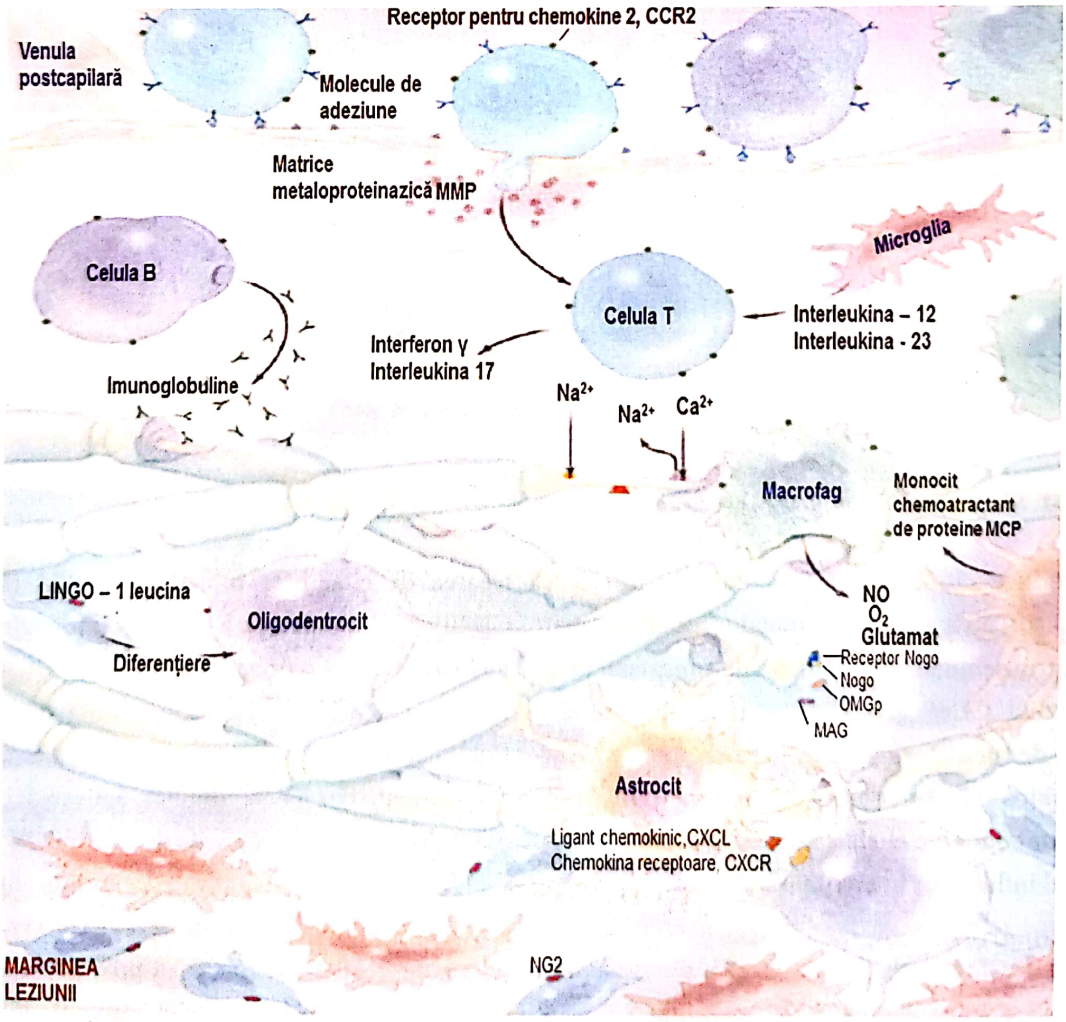


Fig. 11.32. Mecanismul de producere al sclerozei multiple

Scanned with OKEN Scanner

.În cadrul unuei venule postcapilare, molecule de adeziune diferite interacționează cu celulele mononucleare (celule T, celule B, și macrofage) la suprafața endotelială.
În cadrul unei venule postcapilare, molecule de adeziune diferite interacționează cu celulele mononucleare (celule T, celule B, și macrofage) la suprafața endotelială. Matricea metaloproteinazică (MMPs) digeră membrana de suport tip IV de colagen și fibronectină, care facilitează migrarea acestor proteine în sistemul nervos central. Celulele B intră în zona de imunoglobuline elaborate.

Celulele T sunt capabile să elibereze o serie de citokine și chemokine inflamatorii și antiinflamatore. Interleukina-12 și interleukina-23 sunt eliberate din microglia și pot provoca celulele T să elibereze interferonul γ (IFN-γ) și respectiv interleukina-17. Macrofagele înghit internodurile mielinei, expunând suprafețele axonale și eliberând agenți care pot fi dăunători, cum ar fi oxidul nitric (NO), oxigenul (O2) și glutamatul.
Intrarea ionilor de calciu poate provoca o serie de procese dăunătoare, ducând la deteriorarea continuă a axonului și, în cele din urmă, secționarea și neurodegenerarea.

La marginea plăcii, microgliile sunt aliniate la perimetru. La nivelul aceastei linii fine între placa de scleroză multiplă și țesutul normal din jur, sunt rânduri de celulele precursoare, oligodendrocite (OPC), care sunt capabile să intre în zona plăcii și să medieze procesele de reparare, vezi Fig. 11.32. În partea din dreapta jos a figurii, un astrocit cu un ligand chemokinic CXC (CXCL) interacționează cu un oligodendrocit, cu o chemokină CXC receptoare (CXCR). Alți precursori celulari oligodendrociticici sunt convertiți în oligodendrocite. Nogo denotă inhibitor al prelungirilor neuronale, LINGO-1-leucină bogată de repetare și imunoglobulină de domeniu conținând Nogo receptorilor care interacționează cu proteina 4, MCP monocitul chemoatractant de proteine și receptorul pentru chemokine 2 CCR2.

Tratament

Nu există tratament cunoscut pentru sclerozaă multiplă.

Bibliografie:

Hansson G. Mechanisms of disease. Inflammation, atherosclerosis and and coronary artery disease NJM 352:1685-1995, 2005.

C. Smith, A. Marks, M. Liebermann. Basic Medical Biochemistry. A clinical approach. Lippincot William & Wilkins, S.U.A, 2005.

Georg Löffler, Petro Petrides, Peter Heinrich. Biochemie und Pathobiochemie. Hardcover Publisher: Springer, 2005;

David Nelson, Michael Cox. Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman, ediția a3a, 2000.
V. Kumar et al. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. A Saunders Title; ediția a7a, 2005;

Scanned with OKEN Scanner

12. ENERGETICA CELULARĂ

Toate procesele din organismele vii necesită energie. Bioenergetica sau termodinamica biochimică se ocupă cu studiul schimburilor de energie ce însoţesc reacţiile biochimice. Sistemele biologice sunt în esenţă izoterme şi de aceea folosesc energia chimică pentru supravieţuire. Fără energie viaţa este imposibilă.
Celulele convertesc energia din legatura chimică în alte forme de energie : contracţie musculară, gradient de protoni etc.
Pentru a supravieţui, organismul uman trebuie să îndeplinească două condiţii metabolice de bază :
- să poată să *sintetizeze* substanţele necesare care nu pot fi furnizate prin alimentaţie,
- să deţină *mecanismele* necesare care să protejeze mediul intern al organismului de substanţele toxice şi de schimbările survenite în mediul extern.
Pentru a îndeplini aceste condiţii substanţele energetice introduse în organismul uman prin alimentaţie, sunt metabolizate urmând patru căi metabolice de bază (Fig.12.1.):
1. Procese oxidative -procese catabolice care, cu ajutorul reacţiilor de oxidare, convertesc compuşii alimentari (substanţe cu un înalt grad de organizare deci şi cu energie potenţială ridicată) în molecule mai mici (ex CO2, H2O) cu eliberare de energie.
2. Procese de stocare şi mobilizare – reprezintă procesele prin care energia este stocată sub formă de compuşi macroergici, pentru ca apoi sa fie utilizată în perioadele dintre mese sau pentru activităţile care necesită un consum mai mare de energie. Compuşii care au proprietatea specifică de a stoca energia rezultată din procesele de degradare şi de a furniza energie pentru procesele de biosinteză (sau pentru alte procese consumatoare de energie) sunt numiţi *compuşi macroergici*.
3. Procese de biosinteză – prin alimentaţie furnizăm organismului compuşi pe care nu îi putem sintetiza în organism (ex. aminoacizi esenţiali). Alţi compuşi necesari organismului pot fi furnizaţi în parte prin alimentaţie, iar cealaltă parte este sintetizată în organism prin procese de biosinteză.
4. Procese de detoxifiere şi excreţie a deşeurilor metabolice – reprezintă căi metabolice prin care substanţele toxice introduse în organism (prin alimente, medicamente etc.) sunt eliminate. Substanţele care nu mai sunt necesare organismului şi care trebuie eliminate sunt numite xenobiotice.
Cooperarea între ţesuturi precum şi răspunsul la schimbările mediului extern sunt realizate prin intermediul căilor de transport şi de semnalizare intercelulară. Dinamica organismului viu este reprezentată de interrelaţia dintre *procesele de biosinteză* (anabolism) şi *procesele de degradare* (catabolism), procese care în ansamblu alcătuiesc metabolismul intermediar.

Caracteristici generale ale principalelor procese metabolice

În organismul uman energia primară este obţinută din glucidele, lipidele şi proteinele provenite din alimentaţie. Acestea suferă procese complexe de digestie şi absorbţie începând încă din cavitatea bucală.
Produşii de digestie sunt transportaţi prin circulaţie, de aici sunt captaţi de diferite ţesuturi şi oxidaţi la nivel celular în prezenţa oxigenului până la CO_2, H_2O şi energie (Fig. 12.2). Prin respiraţie se introduce în organism oxigenul necesar acestor procese, şi de asemenea se elimină din organism bioxidul de carbon rezultat.
Principalele etape în transformarea energiei sunt :

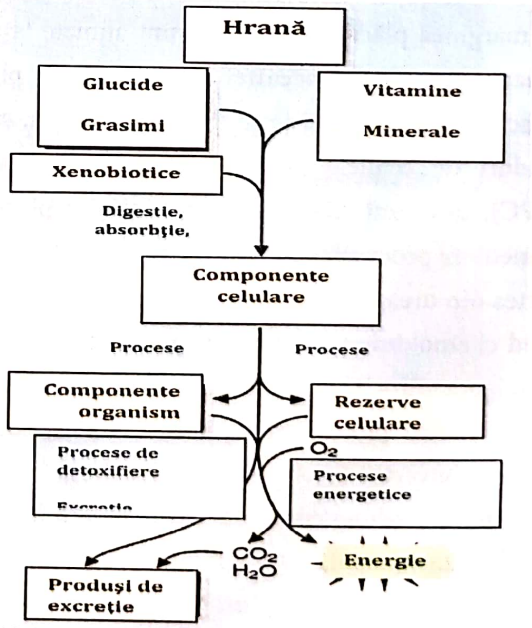


Fig. 12.1. Principalele căi metabolice ale organismului uman (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

1. Oxidarea lipidelor, proteinelor şi glucidelor până la CO_2, H_2O şi energie (oxidare până la acetil-CoA şi parcurgerea ciclului acizilor tricarboxilici);
2. Stocarea energiei obţinute prin oxidare, în compuşi macroergici (ATP) – lanţul transportorilor de hidrogen şi electroni, cuplat cu fosforlarea oxidativă;
3. Utilizarea ATP pentru procesele biochimice consumatoare de energie.

Primele două etape în transformarea energiei alcătuiesc procesul de respiraţie celulară. Acest proces reprezintă calea majoră de obţinere a energiei necesare proceselor vitale şi este un proces ce se desfăşoară în mitocondrie.

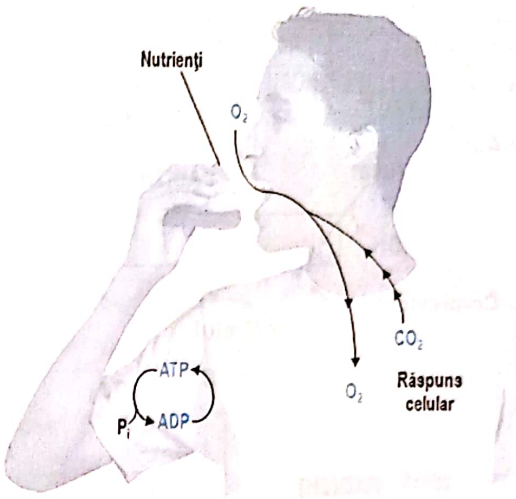


Fig. 12.2. Etapele transformării compuşilor alimentari în energie (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Membrana mitocondrială externă este permeabilă pentru anioni şi molecule mici. Membrana mitocondrială internă este impermeabilă, inclusiv pentru protoni. Complexul proteic al lanţului transportorilor de electroni, precum şi ATP-sintaza sunt componente ale membranei mitocondriale interne, la acest nivel acceptă electroni de la NADH sau $FADH_2$ şi generează ATP (Fig. 12.3).

Glucoza, acizii graşi şi aminoacizii rezultaţi din digestia glucidelor, lipidelor şi respectiv proteinelor, sunt degradate cu ajutorul proceselor oxidative până la acetil coenzima A care urmează calea de degradare a ciclului acizilor tricarboxilici (Fig. 12.4).

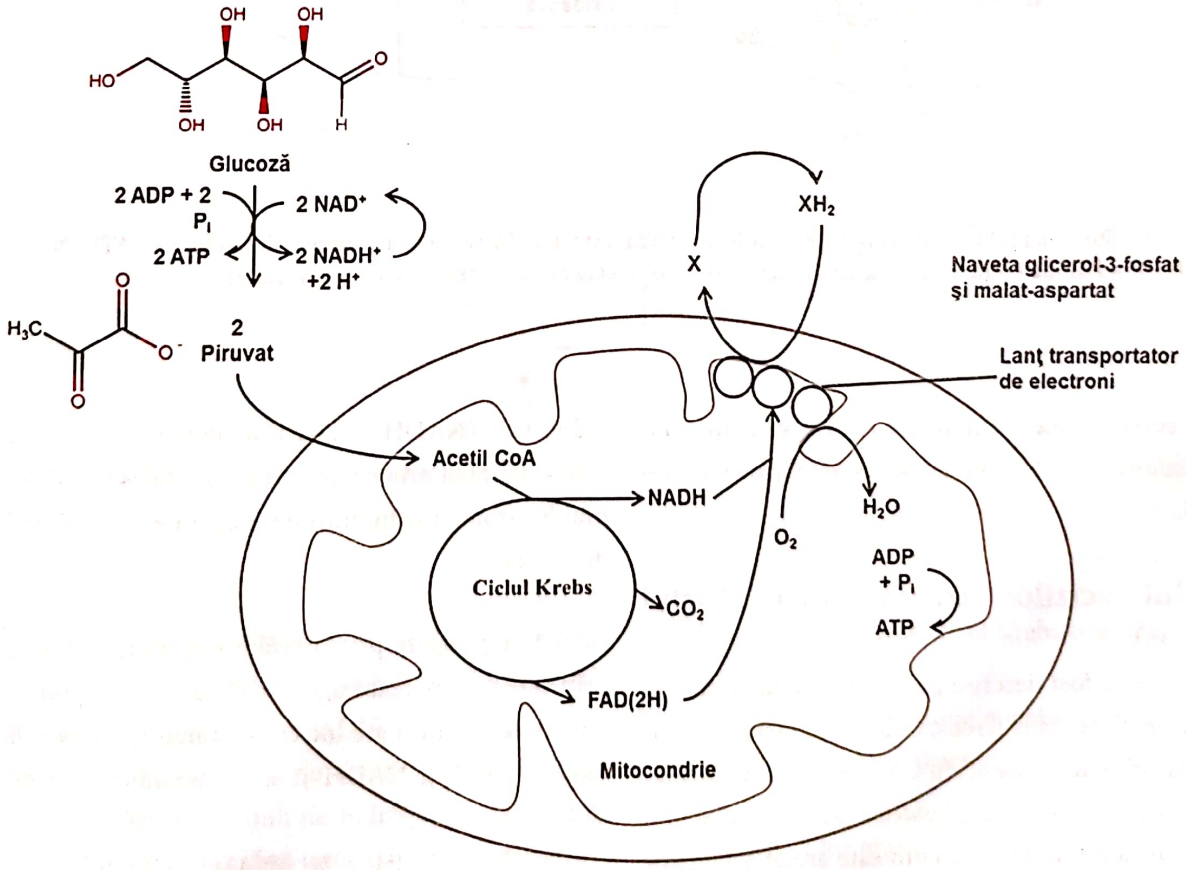


Fig. 12.3. Metabolismul oxidativ la nivelul mitocondriei

Scanned with OKEN Scanner

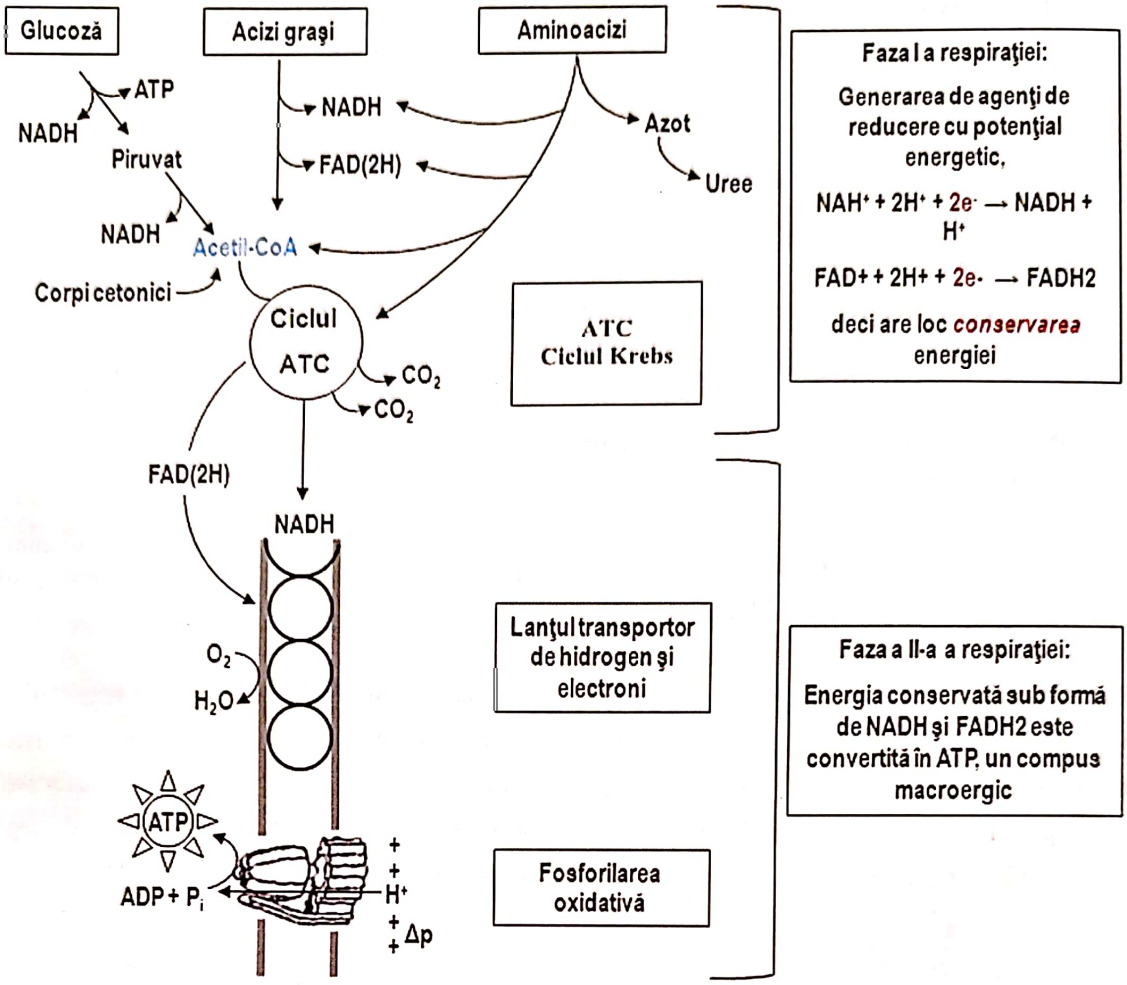


Fig. 12.4. Rolul lanţului respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă în conversia energiei alimentare în ATP; NAD: Nicotin amid dinucleotid; FAD: Flavin dinucleotid (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Alte surse de acetil coenzima A în organism sunt: *degradarea corpilor cetonici* şi *metabolizarea etanolului.*

Ciclul acizilor tricarboxilici (Ciclul Krebs)

Reacţiile au fost descrise pentru prima dată într-un ciclu de către Hans Krebs. Substratul ciclului acizilor tricarboxilici este acetil CoA rezultată din *oxidarea glucidelor* (glucoza), *lipidelor* (acizi grasi) şi *proteinelor* (aminoacizi) aşa cum este aratat schematic in figura 4.5. Produsele ciclului Krebs sunt agentii reducatori ($NADH/FADH_2$) si bioxid de carbaon care se elimina prin expiraţie sau este folosit în sistemul bicarbonat şi în biosinteze care necesită bioxid de carbon.

Aceasta reprezintă prima fază a respiraţiei celulare prin care se generează agenţi de reducere cu potenţial energetic, deci are loc conservarea energiei sub forma $FADH_2$ şi NADH şi se formează 2 moli de CO_2:

$$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADH + H^+$$
$$FAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow FADH_2$$

Scanned with OKEN Scanner

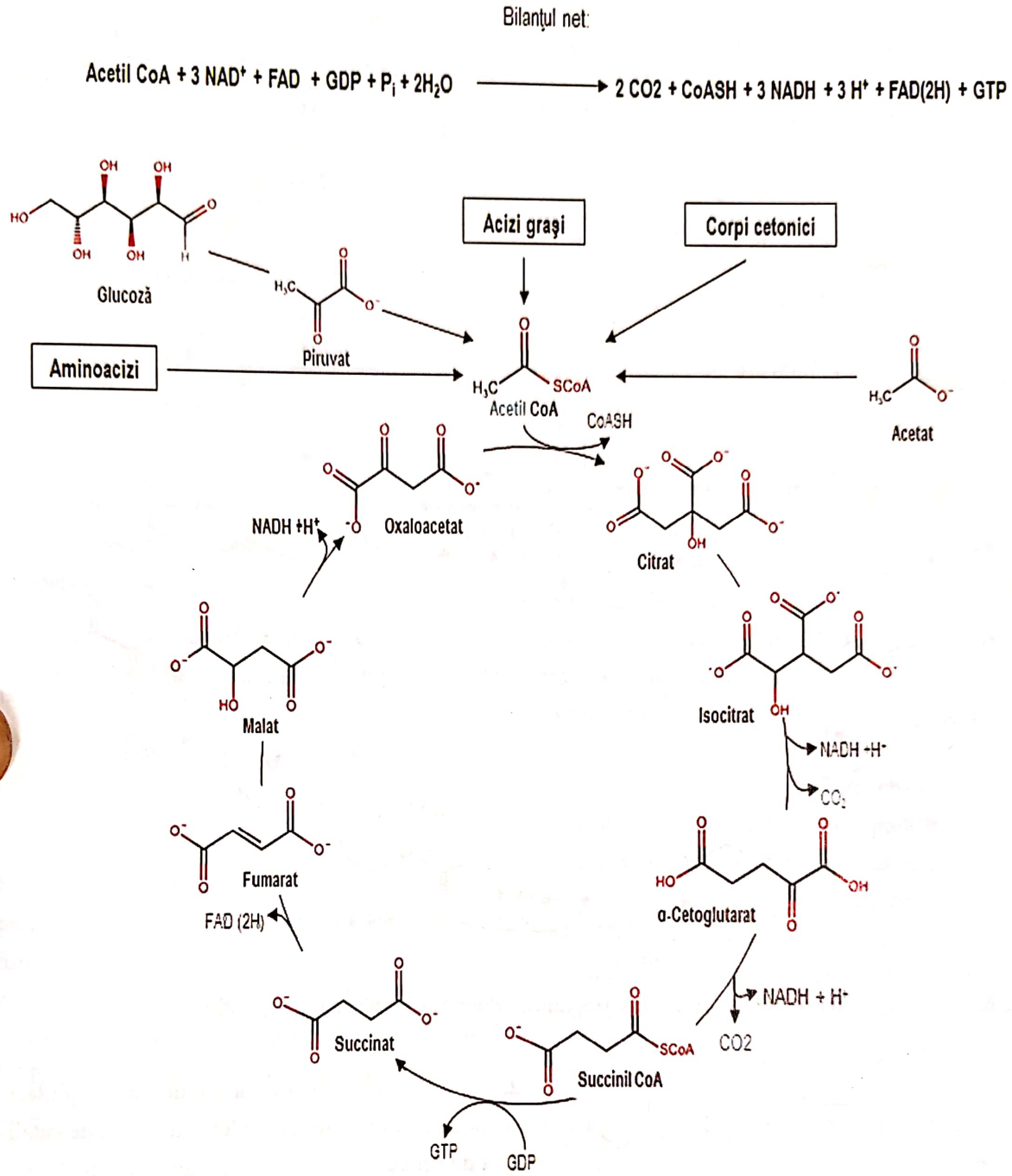


Fig. 12.5. Schema generală a ciclului acizilor tricarboxilici (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

În cadrul ciclului Krebs au loc 4 reacții de dehidrogenare, dintre acestea 3 convertesc NAD în NADH și una transformă FAD în $FADH_2$ (Fig. 12.6).

Reacțiile sunt catalizate de *dehidrogenaze*, enzime care îndepărtează atomii de hidrogen de la nivelul substratului și îi transferă unor acceptori de electroni (NAD sau FAD).

Reacția cu care debutează ciclul Krebs este catalizată de *citratsintază* (Fig. 12.7).

Citratul reprezintă o răspântie metabolică în care se hotărăște soarta acetatului activ:

- ciclul Krebs sau
- biosinteza acizilor grași.

Citrat sintaza reprezintă astfel un punct cheie de

Scanned with OKEN Scanner

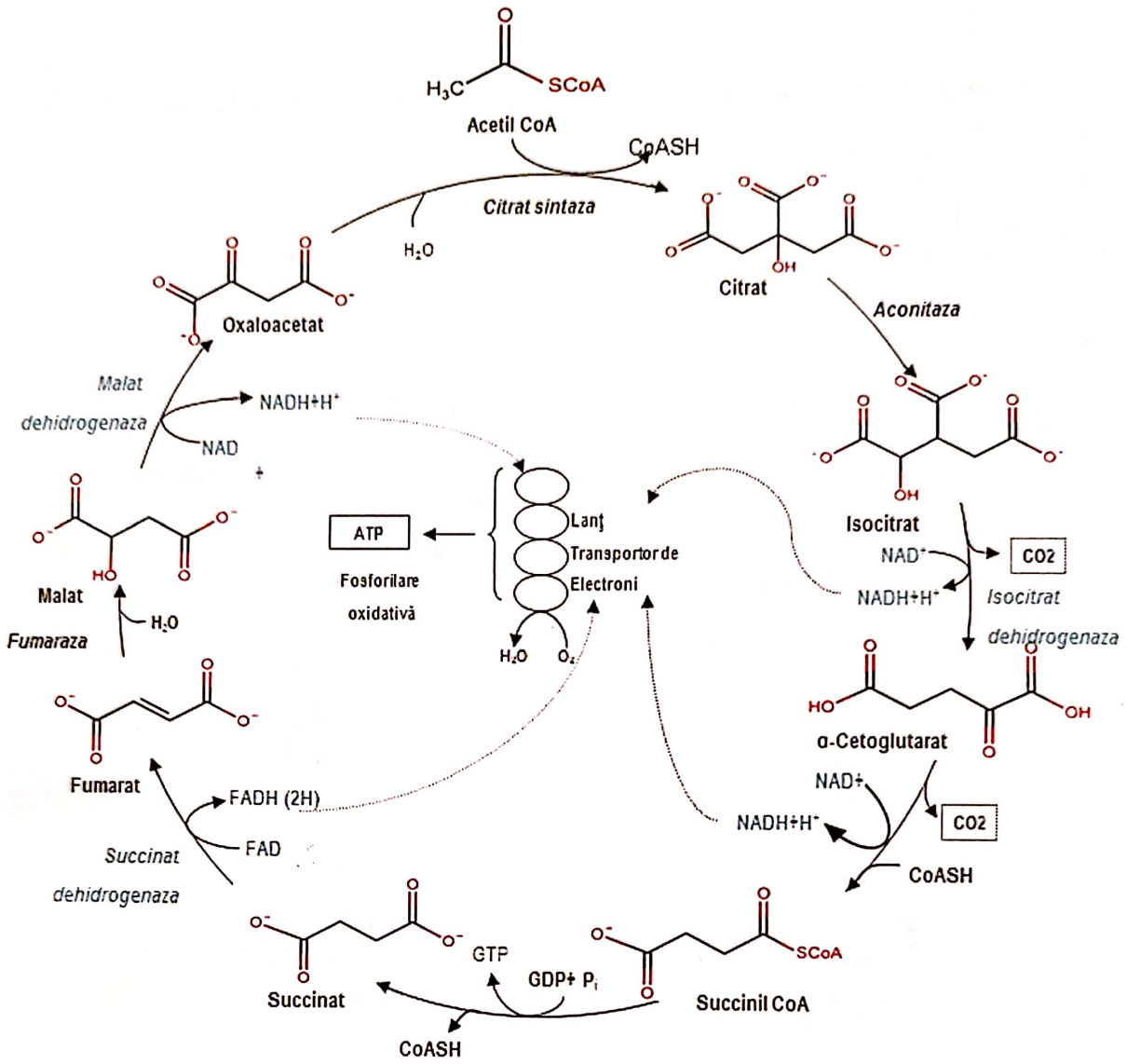


Fig. 12.6. Secvența ciclului acizilor tricarboxilici (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

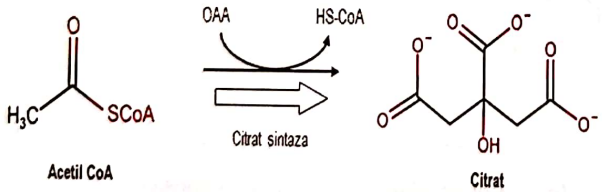


Fig. 12.7. Reacția catalizată de citratsintază

control al acestui proces metabolic.

Etapele în care se formează NADH în ciclul Krebs sunt:

1. Reacția de oxidare a acidului citric la acid α-cetoglutaric este catalizată de izocitratdehidrogenază NAD^+ dependentă. Este o reacție de dehidrogenare urmată de decarboxilare din care rezultă CO_2, α-cetoglutarat și NADH. (Fig. 12.8).

2. Decarboxilarea oxidativă a acidului α-cetoglutaric la succinil CoA, NADH și CO_2. Reacția este catalizată de un complex enzimatic numit α-cetoglutarat dehidrogenază ce necesită coenzime precum: tiaminpirofosfat (TPP), NAD^+, FAD. (Fig. 12.9).

3. Oxidarea acidului malic la acid oxalilacetic, reacție catalizată de malatdehidrogenază NAD^+ dependentă, cu formarea unui mol de NADH. Această

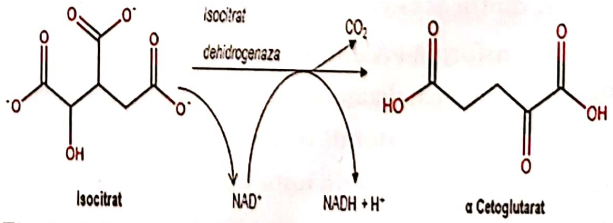


Fig. 12.8. Reacția de oxidare a acidului citric

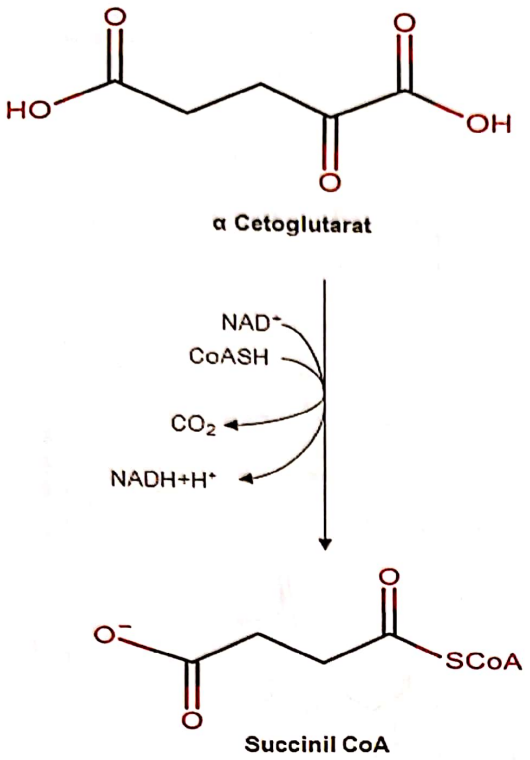


Fig. 12.9. Decarboxilarea oxidativă a acidului α-cetoglutaric

reacție închide ciclul Krebs, oxaloacetatul format fiind disponibil pentru un nou ciclu de reacții.

Etapa de formare a $FADH_2$ în ciclul Krebs este reprezentată de reacția de oxidare a succinatului la fumarat catalizată de *succinatdehidrogenază FAD dependentă*, prin care se formează $FADH_2$.

Din ciclul acizilor tricarboxilici rezultă un mol de GTP, reacția de formare a GTP este catalizată de *succinat tiokinază*.

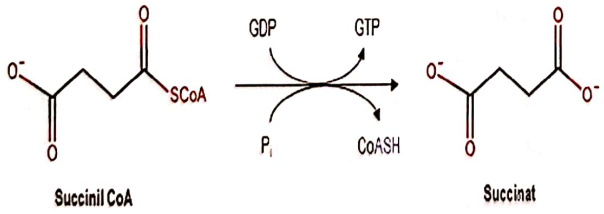


Fig. 12.10. Reacția de formare a succinatului

Bilanțul energetic al ciclului Krebs

Din ciclul Krebs rezultă:

- 1 mol de GTP care poate forma un mol de ATP;
- 3 moli de NADH, se pot obține 2,5 moli de ATP/mol NADH;
- 1 mol de $FADH_2$, din care se poate forma 1,5 moli ATP

Total moli ATP per mol de acetil CoA = 1ATP+3x-2,5ATP+1x1,5ATP = 10 moli ATP

Reglarea ciclului Krebs

Viteza de desfășurare a ciclului Krebs este dependentă de necesarul de energie al celulei la momentul respectiv. Starea energetică celulară este măsurată de doi parametri: raportul ATP/ADP și raportul $NADH/NAD^+$.

Reglarea ciclului Krebs prezintă două aspecte (Fig. 12.11):

- reglare în funcție de concentrația substratului: cantitatea de acetil CoA, concentrația vitaminelor B (coenzime în acest proces), NAD^+ și FAD^+, concentrația intermediarilor ciclului, în special a acidului oxalilacetic.

- reglare enzimatică: enzimele cheie, cu rol de control al ciclului Krebs sunt reprezentate de: citratsintetaza, izocitratdehidrogenaza și α – cetoglutarat- dehidrogenaza. ATP-ul fiind produsul final al acestei căi energogene, reprezintă și inhibitor al enzimelor de reglare ce acționează prin mecanism de feed-back negativ. ADP și $Ca2^+$ sunt efectori pozitivi ai enzimelor de reglare (vezi figura de mai sus).

Ciclul acizilor tricarboxilici, cale amfibolică

Posibilitatea ciclului Krebs de a furniza precursori în vederea sintezei altor compuși celulari (sinteza aminoacizilor, gluconeogeneza, sinteza hem-ului) îi conferă acestuia denumirea de cale amfibolică. Ciclul Krebs funcționează pe de o parte drept cale catabolică (energogenă) iar pe de altă parte este o cale anabolică (de sinteză) (Fig. 12.12).

În sistemul nervos central α-cetoglutaratul este convertit la *glutamat* și *acid gama amino butiric* (GABA), cu rol de neurotransmițători.

Reacțiile care furnizează intermediari ai ciclului Krebs sunt numite *reacții anaplerotice*

Scanned with OKEN Scanner

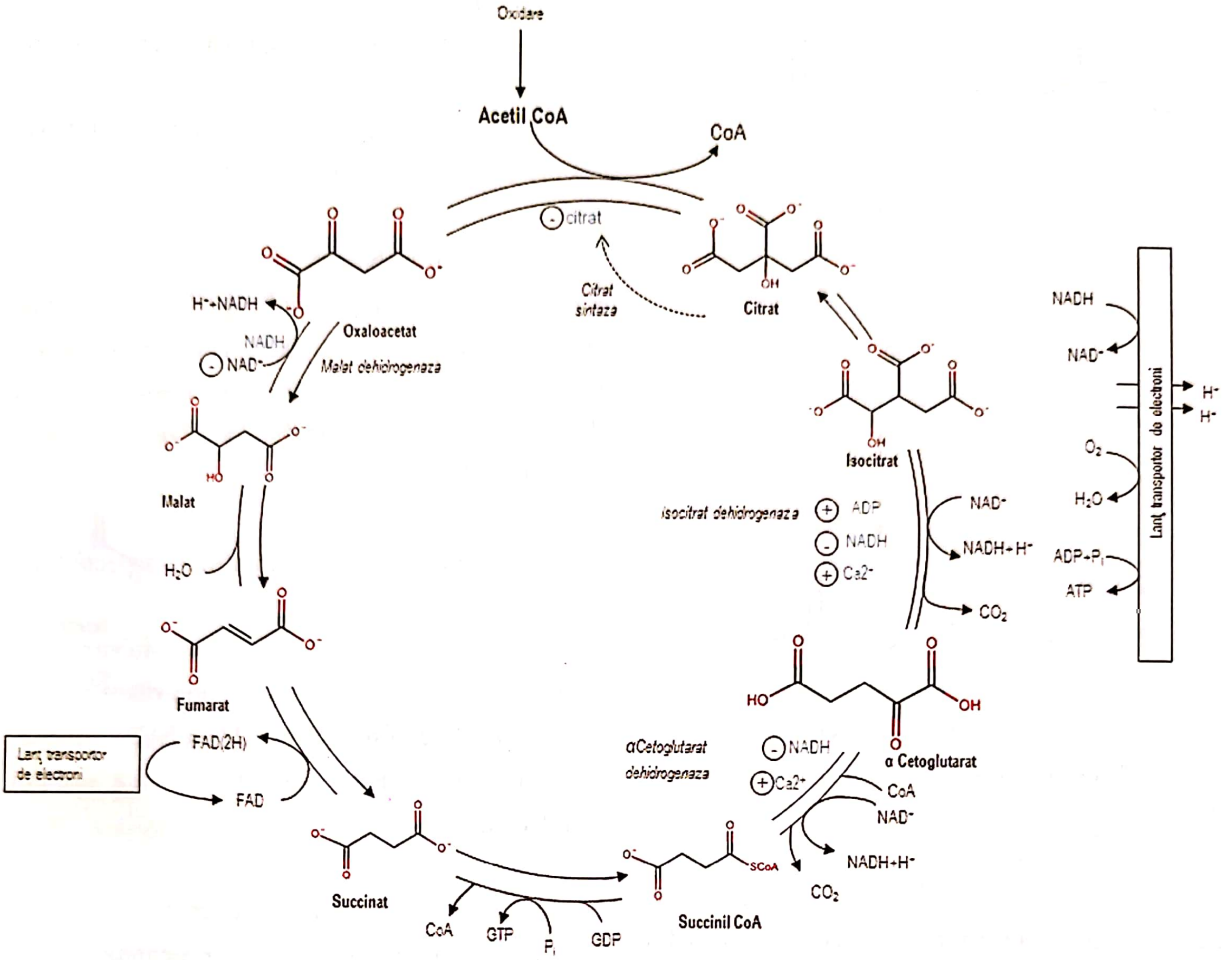


Fig. 12.11. Etapele cheie de reglare ale ciclului Krebs (după Marks Biochemistry, 2005)

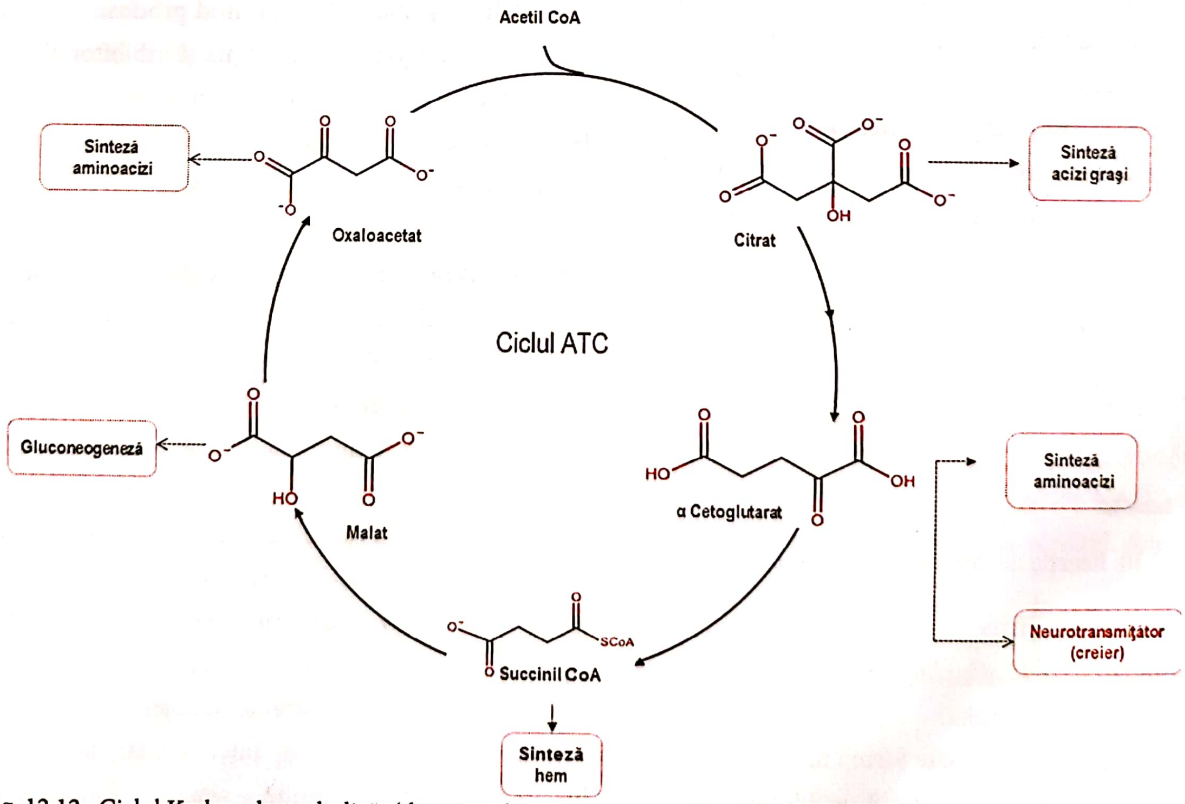


Fig. 12.12. Ciclul Krebs cale anabolică (după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

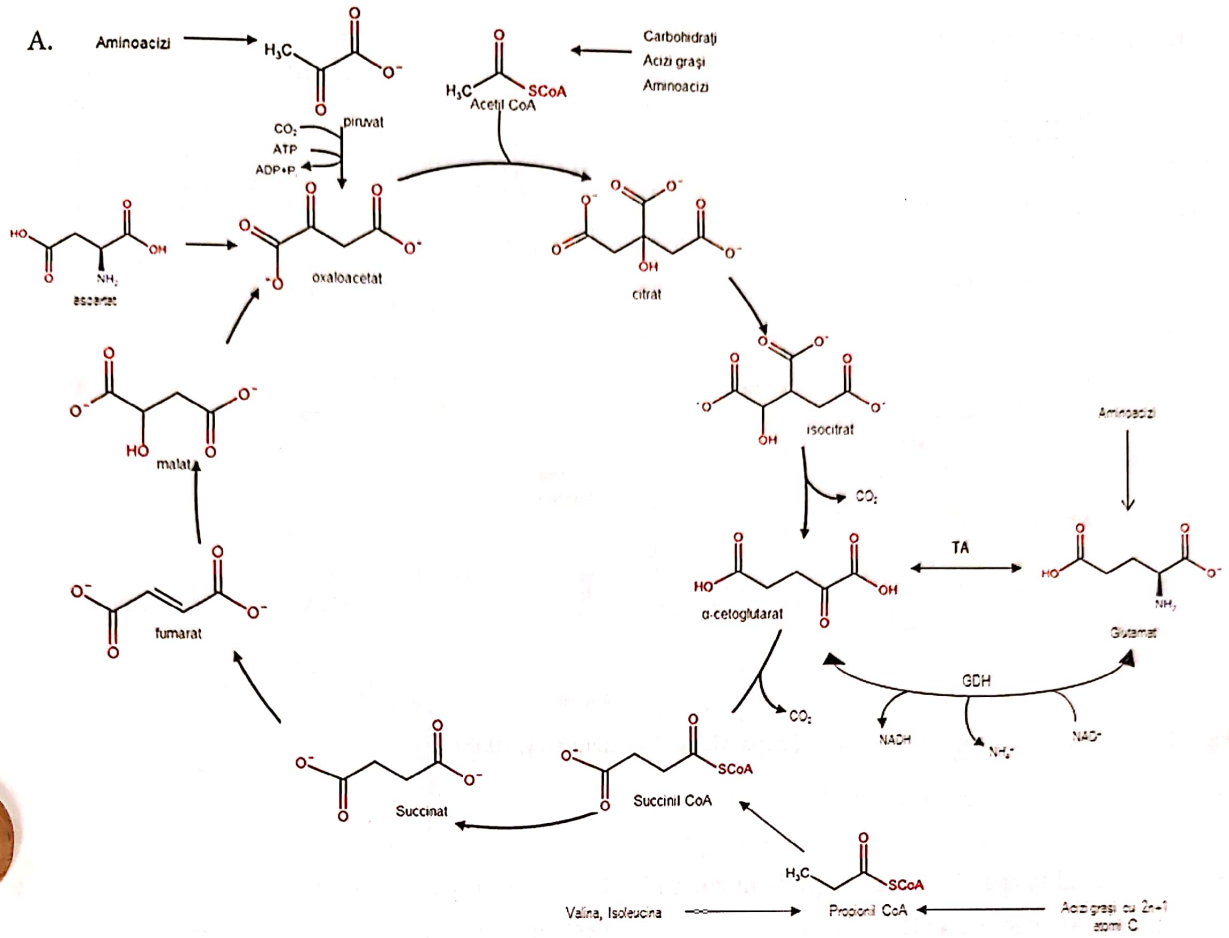


Fig. 12.13. Principalele reacţii anaplerotice ale ciclului Krebs (după Marks Biochemistry, 2005) A. Carboxilarea piruvatului la oxalacetat.

(Fig. 4.13.), (*"ana şi pliros"* – a reumple). Un exemplu de reacţie anaplerotică îl constituie carboxilarea piruvatului la oxaloacetat, catalizată de catre piruvatcarboxilază, enzimă ce necesită drept coenzimă biotina. Deficienţa de piruvat carboxilază caracterizează *boala Leigh* (encefalopatia necrotizantă subacută care se manifestă prin retard mintal şi acidoză lactică. Acidul oxalilacetic se mai poate forma din acid aspartic printr-o reacţie de transaminare.

Lanţul transportorilor de hidrogen şi electroni. Fosforilarea oxidativă

Reprezintă faza a doua a respiraţiei celulare, energia conservată sub formă de NADH şi $FADH_2$ este convertită în ATP (compus macroergic) prin oxidarea acestora în lanţul respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă

Ciclul acizilor tricarboxilici (ciclul Krebs) împreună cu lanţul respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă, reprezintă calea comună de degradare a glucidelor, lipidelor şi proteinelor până la bioxid de carbon, apă şi energie.

Lanţul respirator şi fosforilarea oxidativă sunt un proces mitocondrial, funcţia lor este strâns corelată cu cea a ciclului acizilor tricarboxilici (Fig. 12.14). Reprezintă ultima etapă de degradare aerobă a substratelor energogene, energia rezultată prin oxidare (în principal a acizilor graşi) fiind astfel convertită în compuşi fosfat macroergici, prin fosforilare oxidativă.

Modelul chemiosmotic al lui Mitchel

Ciclul Krebs si glicoliza stochează energia sub forma NADH si $FADH_2$. Oxidarea NADH si $FADH_2$ în lanţul respirator furnizează electronii necesari pt a

Scanned with OKEN Scanner

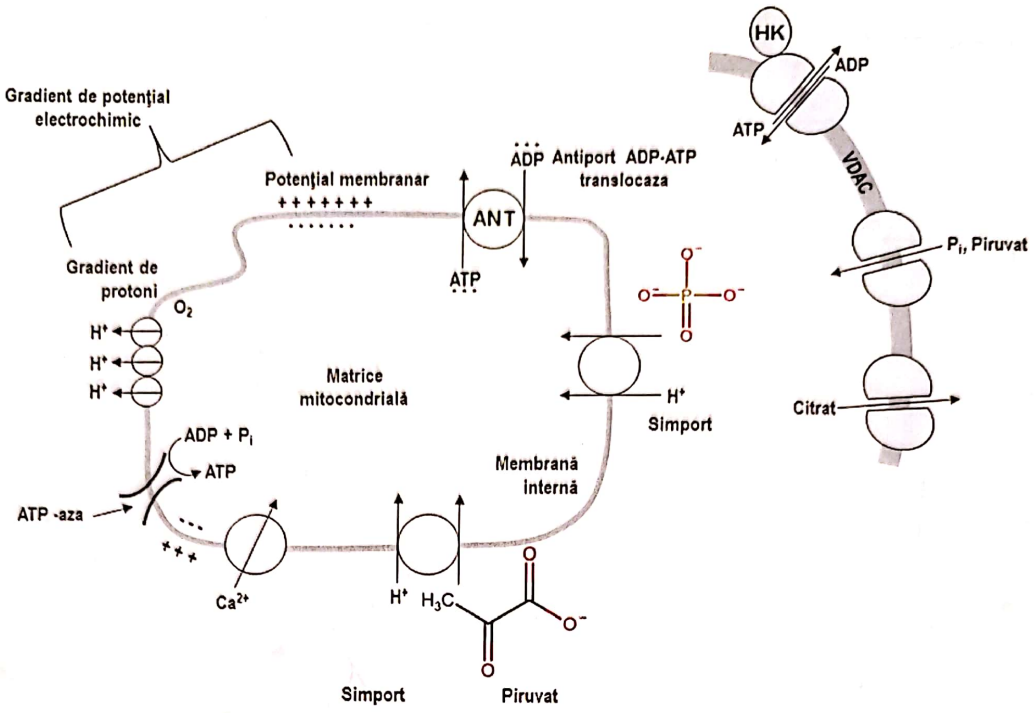


Fig. 12.14. Localizarea lanțului respirator (după Marks Biochemistry, 2005)

reduce oxigenul la apă si crează un gradient chemiosmotic ce poate genera ATP.

Lanțul respirator este alcătuit din 4 mari complexe transmembranare (Fig. 12.15):

1. NADH dehidrogenaza (complexul I) –transferă electronii de la NADH la CoQ
2. Succinat dehidrogenaza (complexul II) – transferă electronii de la $FADH_2$ la CoQ
3. Citocromii b-c1 (complexul III) –realizează transferul electronilor de la coenzima Q la citocromul c
4. Citocromoxidaza (complexul IV) – transferă electronii de la citocromul c la oxigen, pe care îl ionizează putându-se astfel combina cu protonii din mediu ($2H^+$) formând apa.
5. Protonii sunt pompati din matrix în citosol (n=4) si se crează un potential electrochimic generat de gradientul transmembranar de protoni (Δp), energie ce poate fi convertită în ATP.
6. Protonii revin în matrix prin canalul ATP sintazei ceea ce determină sinteza ATP.

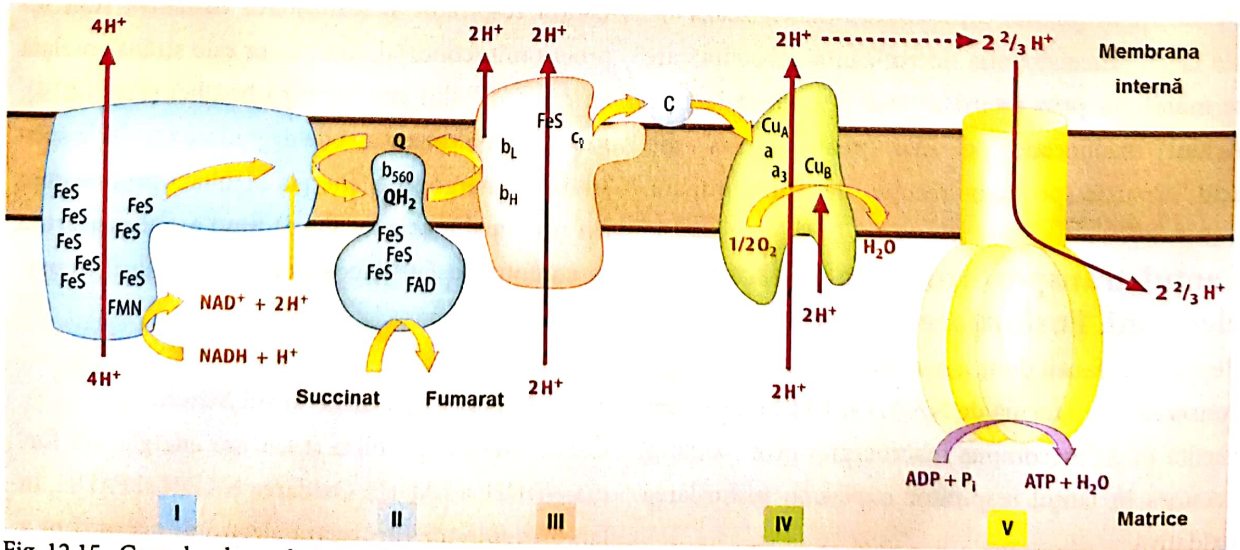


Fig. 12.15. Complexele ce alcătuiesc lanțul respirator (modificat după după Petrides, Biochemie, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

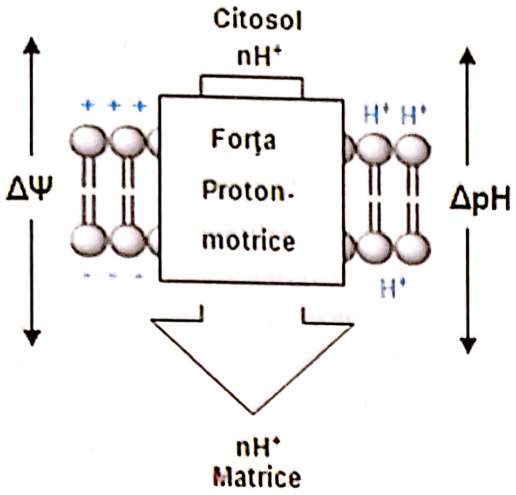


Fig. 12.16. Acţiunea forţei protonmotrice (modificare după Marks Biochemistry, 2005)

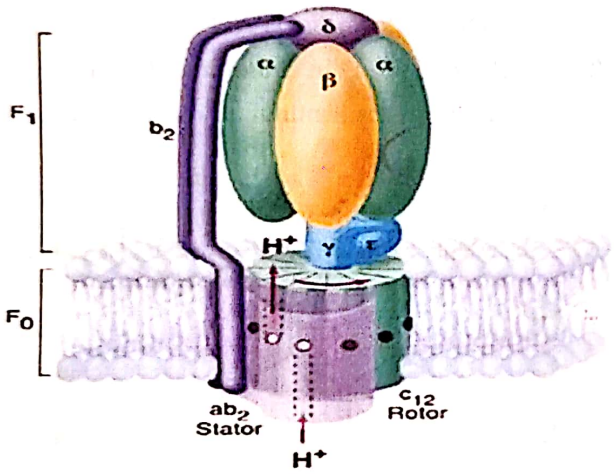


Fig. 12.17. Componentele ATP-sintazei (modificare după Marks Biochemistry, 2005)

Potenţialul electrochimic (forţa protonmotrice)

Prezintă două mari componente:

1. Componenta „electrică"- potenţialul de membrană este rezultatul acumulării pe faţa externă a protonilor ceea ce conferă acesteia o încărcătură pozitivă,

2. Componenta chimică – potenţialul electrochimic este dat de concentraţia crescută a protonilor în citosol comparativ cu cea din matrix.

Forţele proton motrice tind să impingă protonii înapoi în matrix (Fig. 12.16).

ATP sintaza este un complex proteic alcătuit din:

- Componenta F0 – canalul ce străbate membrana internă mitocondrială prin intermediul căreia protonii reintră în matrix;
- Componenta F1 –proemină în matrix şi catalizează adiţia radicalului fosfat la ADP cu formarea ATP, proces ce necesită protoni şi descompune apa (Fig. 12.17).

Lanţul transportorilor de hidrogen şi electroni constă dintr-o succesiune de reacţii de oxidare şi reducere care se realizează cu ajutorul flavinmononucleotidelor (FMN), centri Fe-S, coenzima Q şi fierul din citocromi (b, c1,c, a şi a3) (Fig. 12.18). Electronii de la NADH si $FADH_2$ sunt sunt acceptaţi de FMN şi

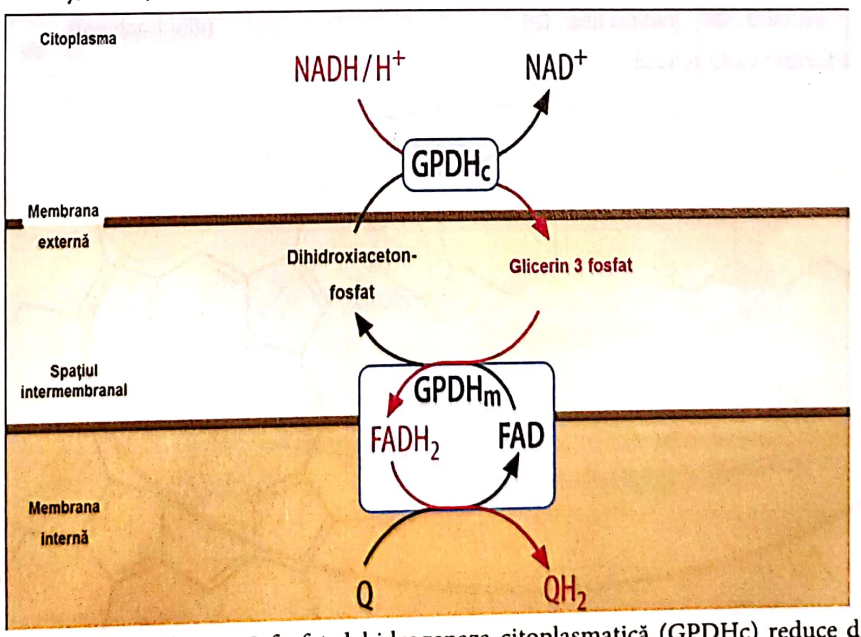


Fig. 12.18. Lanţul respirator; Glicerin 3 fosfat dehidrogenaza citoplasmatică (GPDHc) reduce dihidroxiacetonfosfatul la glicerin-3-fosfat, iar glicerin-3-fosfat dehidrogenaza mitocondrială (GPDHm) participă la reoxidarea glicerin 3 fos-fatului (modificat după Petrides, Biochemie 2014)

Scanned with OKEN Scanner

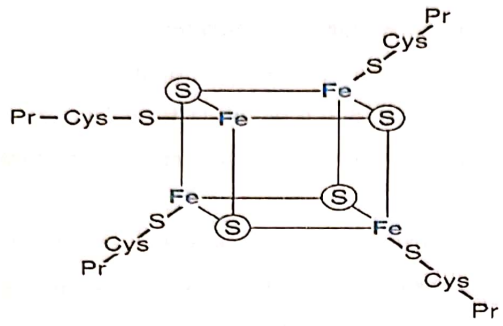


Fig. 12.19. Centrii Fe-S

respectiv FAD, apoi prin intermediul centrilor Fe-S transferă electronii coenzimei Q (Fig. 12.19)

CoQ (ubiquinona) este o quinonă ce conține un lanț lung izoprenoid lipofil, acesta poate accepta electroni formând *CoQ redusă* (Fig. 12.20)

Citocromii sunt proteine ce conțin o grupare hem (un ion Fe^{3+} legat de un nucleu porfirinic), aceștia acceptă electroni de la CoQ transformându-se în Fe^{2+} și cedează mai departe electronii reoxidându-se la Fe^{3+} (Fig. 12.21). Citocrom oxidaza este ultimul complex ce transferă electronii de la citocromul c la oxigen si necesită prezenta Cu^{2+}. Reprezintă locul de inhibiție al unor compuși toxici pentru organismul uman precum cianurile și CO, acestea blocând astfel transferul electronilor la oxigen.

Viteza de cuplare a lanțului transportorilor de electroni cu fosforilarea oxidativă este corelată cu rata de utilizare a ATP (nivelul de ADP, Pi și căldură).

1. ADP este fosforilat la ATP;
2. Protonii intră din citosol în mitocondrie;
3. Scăderea gradientului de protoni face ca

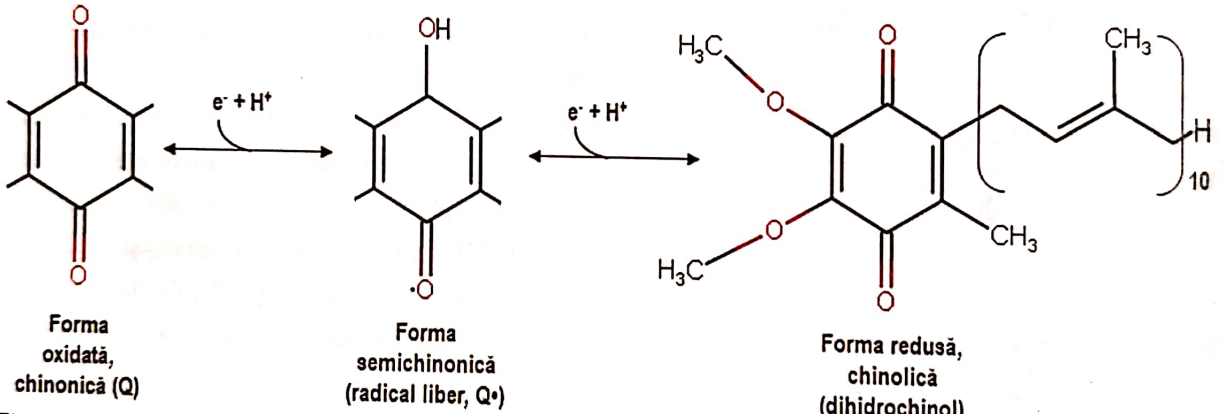


Fig. 12.20. Sinteza formei CoQ redusă

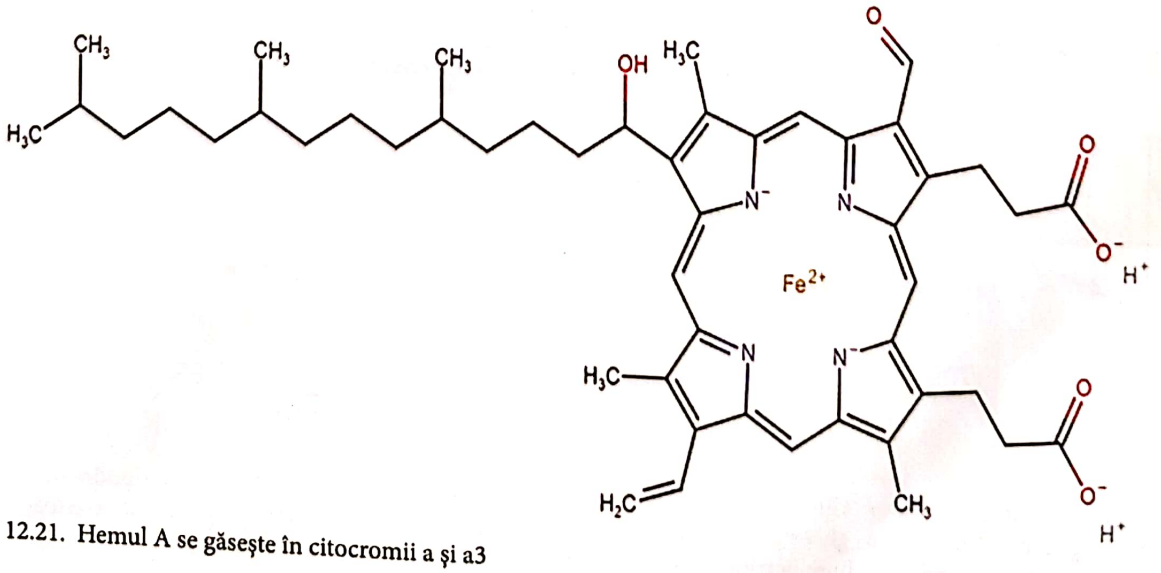


Fig. 12.21. Hemul A se găsește în citocromii a și a3

Scanned with OKEN Scanner

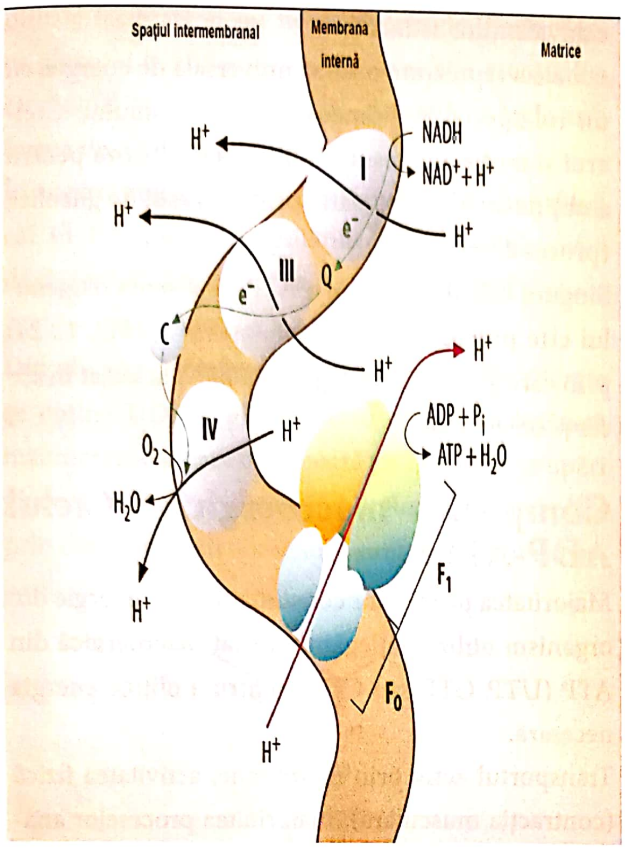


Fig. 12.22. Ipoteza chemiosmotică a sintezei de ATP (după Petrides Biochemie, 2014)

lanțul respirator să pompeze mai mulți protoni de la NADH si $FADH_2$ pentru a menține gradientul de protoni;

4. Creșterea reoxidării NADH în lanțul respirator și creșterea concentrației de ADP stimulează căile oxidative precum ciclul Krebs.

ATP-ul format este transportat în citosol cu ajutorul sistemului antiport ATP-ADP translocază. Fosfatul și piruvatul intră în mitocondrie simport cu protonii. $Ca2^+$ pătrunde în mitocondrie cu ajutorul transportorului dependent de potențialul de membrană (Fig. 12.22).

Decuplarea acestor două procese, adică nivelarea gradientului de protoni prin trecerea pasivă protonilor are drept consecință pierderea energiei sub formă de caldură și accelerarea metabolismului.

Un exemplu de decuplant chimic este *dinitrofenolul* (transportă protoni de o parte și de cealaltă a membranei).

Fiziologic, în țesutul adipos brun specializat pentru termogeneză, termogenina actionează ca decuplant generând căldura, acțiune stimulată de norepine-

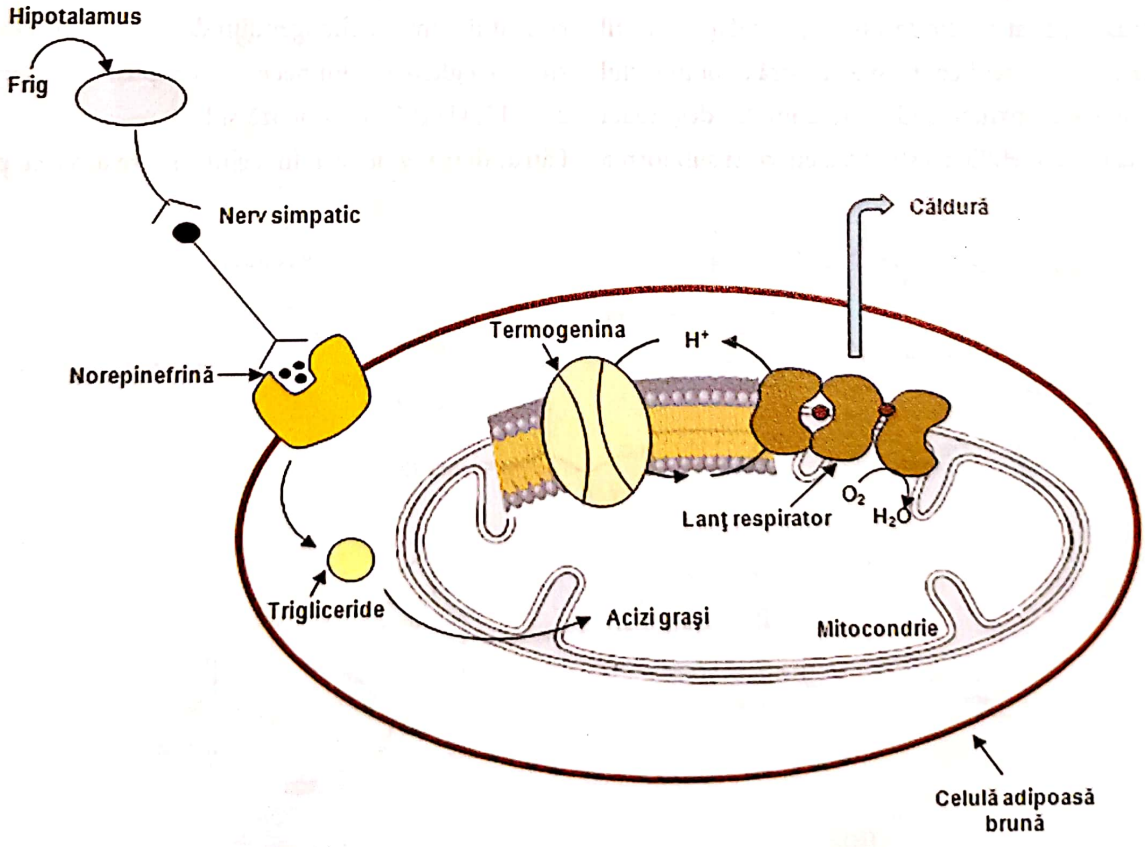


Fig. 12.23. Reglarea termogenezei (după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

frină (noradrenalină) (Fig. 12.23).

Frigul sau excesul de hrană stimulează eliberarea de norepinefrină. Nou născutul posedă depozite de ţesut adipos brun (gât, stern, interscapular, în jurul rinichilor) importante pentru menţienrea temperaturii în condiţiile unui control scăzut al variaţiilor de temperatură din mediul înconjurător.

Principalele forme de stocare a energiei

Când dieta depăşeşte necesarul de energie al organismului, aceasta trebuie stocată.

Într-o primă fază, glucidele sunt stocate ca glicogen în muşchi şi ficat (în cantitate limitată-0,2%) şi în cantitate mică în muşchi sub formă de proteine.

Când această formă de depozit este depăşită, glucidele sunt transformate în triacilgliceroli şi depozitate împreună cu acizii graşi din alimente, în ţesutul adipos ca principală formă de stocare a excesului de energie (85%) Aceştia se pot depozita nelimitat, proces care este avantajos pentru organism.

Între mese, acizii graşi sunt eliberaţi din depozite în circulaţia sanguină, de unde sunt preluaţi de către muşchi, ficat şi alte ţesuturi, şi oxidaţi la acetil coenzima A. Acetil coenzima A intră apoi în ciclul acizilor tricarboxilici unde este complet degradată până la CO2 şi H2O, cu stocarea energiei sub forma echivalenţilor reducători.

Glucoza reprezintă o sursă universală de energie, cu un rol special în homeostazia organismului. Creierul şi multe alte ţesuturi, utilizează glucoza pentru a obţine energia necesară, prin procesul de glicoliză (proces citosolic).

Singura cale de obţinere a ATP în absenţa oxigenului este procesul de *glicoliză anaerobă*, (Fig. 12.24) prin care glucoza este degradată până la lactat în absenţa oxigenului.

Compuşii macroergici. Ciclul ADP-ATP

Majoritatea proceselor consumatoare de energie din organism utilizează legătura fosfat macroergică din ATP (UTP, GTP sau CTP) pentru a obţine energia necesară.

Transportul activ prin membrane, activitatea fizică (contracţia musculară), majoritatea proceselor anabolice, procesele de detoxifiere şi termoreglare sunt câteva exemple de procese în care energia necesară este obţinută prin conversia ATP în ADP şi Pi.

Un exemplu de proces anabolic ce utilizează ATP îl constituie sinteza glicogenului din glucoză. Calea de sinteză a glicogenului necesită compuşi macroergici ca: ATP, UTP, UDP-glucoză şi PPi.

Pătrunderea glucozei în celulă se realizează prin

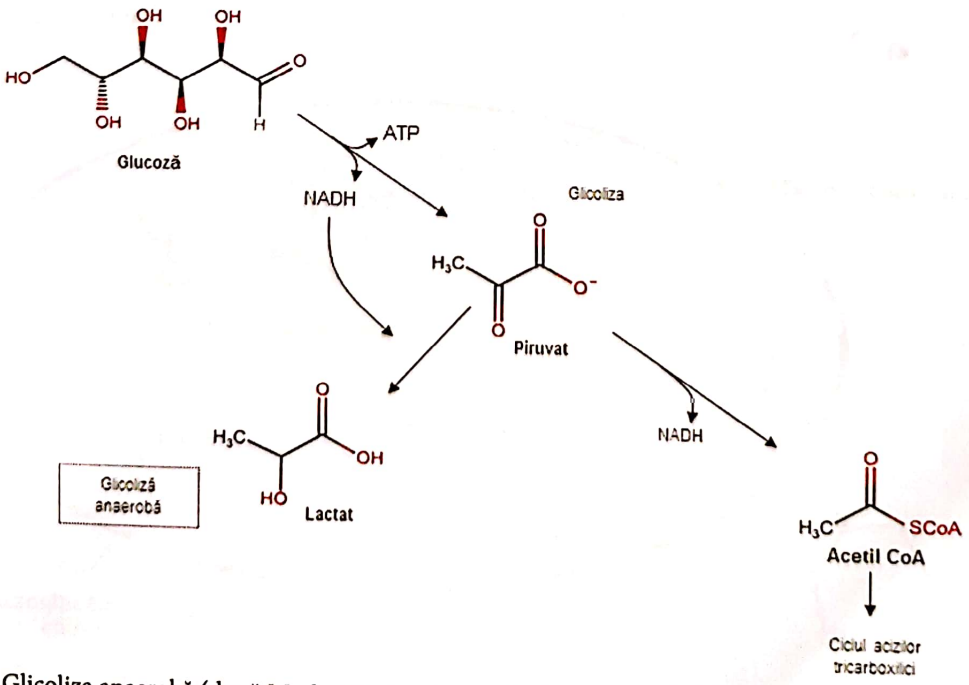


Fig. 12.24. Glicoliza anaerobă (după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

difuzie facilitată şi nu necesită energie. Fosforilarea glucozei la glucozo-6-fosfat, condiţie esenţială a rămânerii glucozei în celulă necesită energie sub formă de ATP (Fig. 12.25).

În această etapă glucozo-6 fosfatul poate urma două căi în funcţie de necesităţile organismului: *calea de degradare (glicoliza)* sau *calea de sinteză a glicogenului* prin conversie la glucozo-1-fosfat.

Din glucozo-1-fosfat şi UTP ca donator de energie se obţine UDP – glucoza care conţine o legătură macroergică şi care acţionează ca donor de grupări glucozil în sinteza glicogenului. Reacţiile catabolice prin care compuşii alimentari sunt oxidaţi cu eliberare de energie, sunt necesare pentru refacerea compuşilor macroergici consumaţi.

Acest proces ciclic, continuu de utilizare a energiei conţinută în legatura fosfat macroergică a ATP şi de refacere a acestuia prin oxidarea compuşilor alimentari este cunoscut sub numele de *ciclul ATP-ADP* (Fig. 12.26).

Cu ajutorul acestui ciclu se menţine homeostazia ATP-ului în organism şi reprezintă veriga de legătură între procesele care generează energie şi cele care o utilizează.

Pentru a menţine echilibrul energetic al organismului, fără variaţii ale greutăţii corporale, aportul ali-

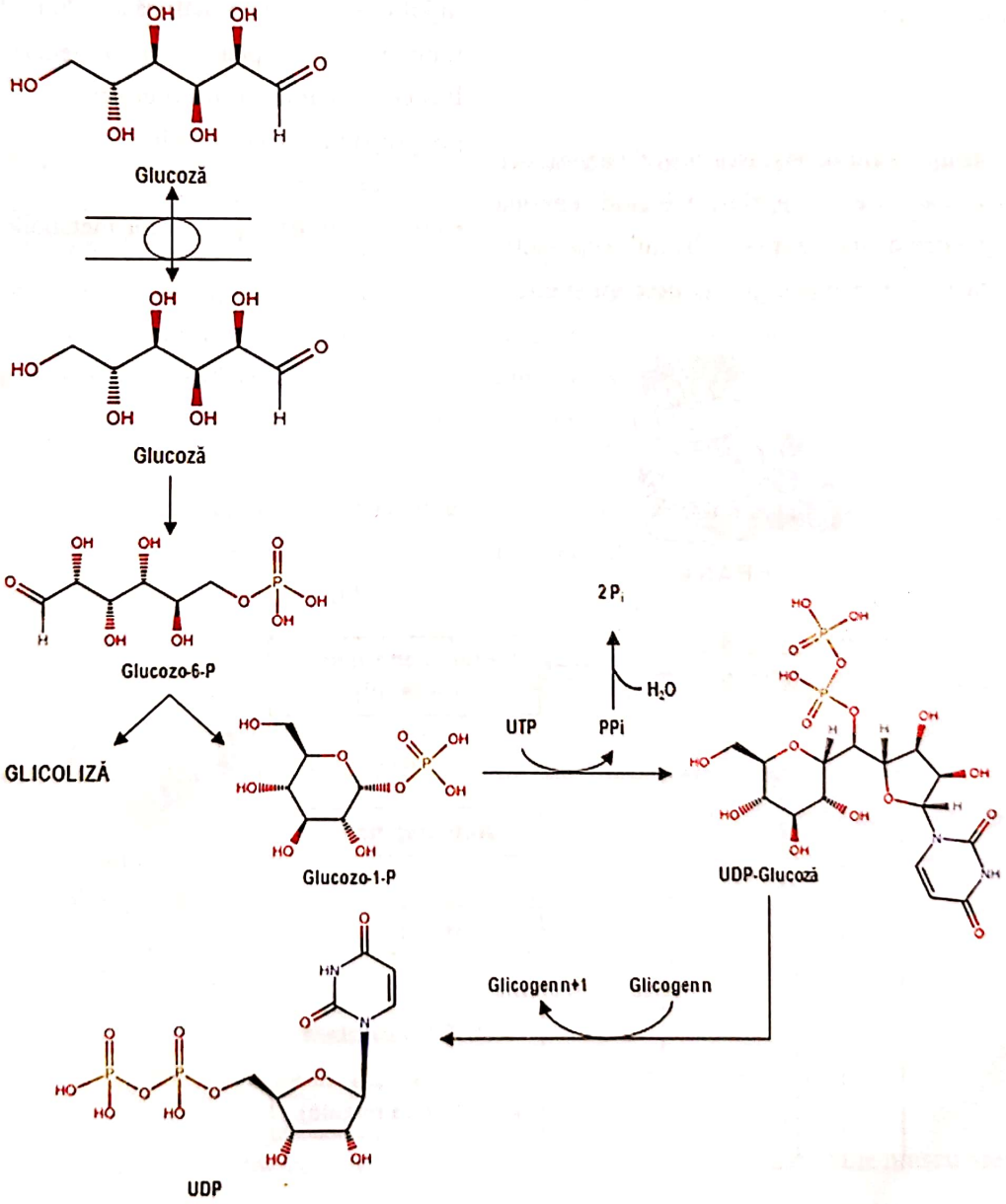


Fig. 12.25. Sinteza UDP (după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

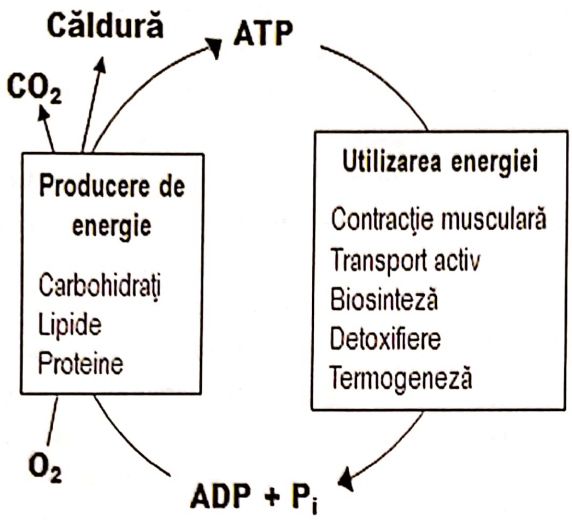


Fig. 12.26. Ciclul ATP-ADP (modificare după Marks Biochemistry, 2005)

mentar trebuie să nu depăşească nevoile energetice zilnice. Nevoile energetice zilnice includ: energia necesară pentru a susţine metabolismul bazal, activităţile fizice, rezervele energetice, precum şi energia necesară prelucrării alimentelor ingerate (Fig. 12.27). Metabolismul bazal, spre deosebire de cel intermediar, reflectă comportamentul organismului în condiţii standard (temperatură, presiune) astfel încât consumul de energie să fie minim.

Rata metabolică bazală (BMR) reprezintă o măsură a energiei necesare pentru supravieţuire (asigură funcţia rinichilor, plămânilor, reacţiilor biochimice etc).

Se determină de obicei prim măsurarea consumului de oxigen sau a căldurii eliminate de către un subiect, dimineaţa la trezire, în lipsa activităţii fizice şi după 12 ore de repaus alimentar. BMR se exprimă în kilocal/zi şi este o măsură a ciclului ATP-ADP al unui individ în repaus fizic şi alimentar.

Principalii compuşi macroergici ai organismului se pot grupa în două categorii:

1. Compuşi fosforilaţi:

• rezultaţi în urma proceselor metabolice: *1,3 bisfosfoglicerat şi fosfoenolpiruvat*:

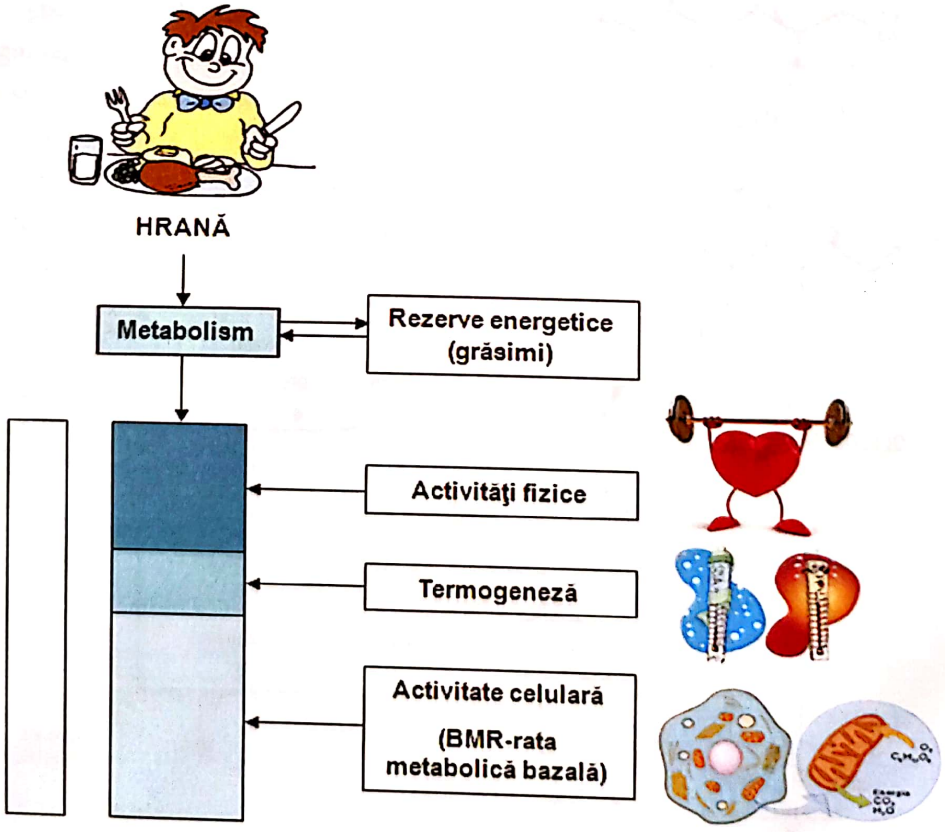


Fig. 12.27. Necesarul energetic zilnic

Scanned with OKEN Scanner

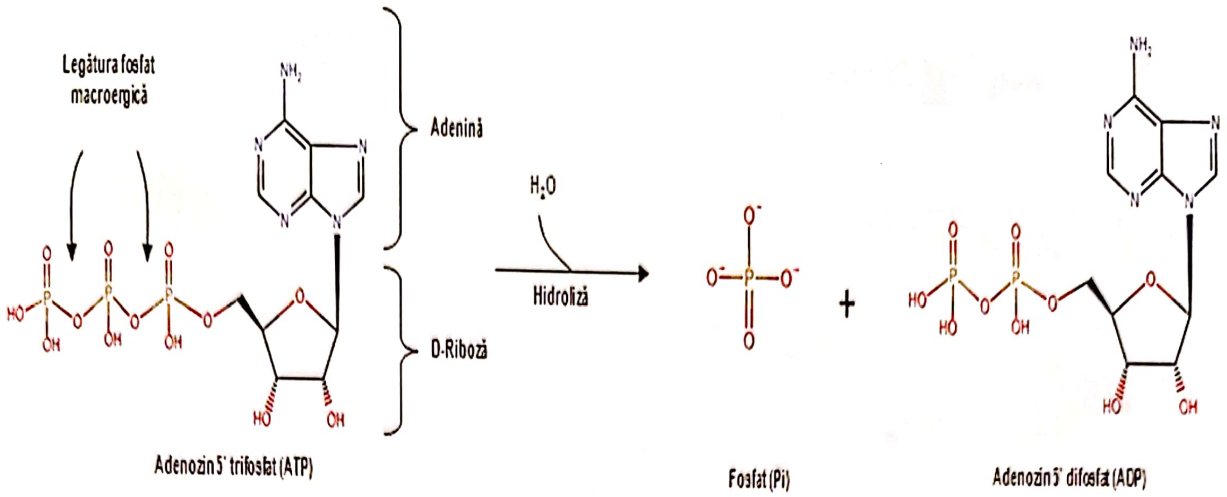


Fig. 12.28. Compuşi fosforilaţi

• compuşi fosforilaţi de depozit: *adenozintrifosfat* (ATP), *guanozintrifosfat* (GTP), *citidintrifosfat* (CTP), *uridintrifosfat* (UTP), *creatinfosfat*.

Pentru eliberarea energiei conţinută în legătura fosfat macroergică din structura ATP, acesta este scindat hidrolitic până la ADP + Pi, (Fig. 12.28)

2. Compuşi nefosforilaţi: *acetil coenzima A, S-adenozil metionina*.

Compuşii macroergici, sub acţiunea unor enzime, pot prezenta reacţii de interconversie. ATP-ul poate transfera acidul fosforic altor ribonucleotid-difosfaţi (uridilici, citidilici sau guanilici) cu formarea ribonucleotid-trifosfaţilor corespunzători:

ADP-ul poate ceda gruparea fosfat macroergică unei alte molecule de ADP cu formarea ATP si AMP.

Patobiochimia fosforilării oxidative

Disfuncţia mitocondriilor are drept consecinţă scăderea oxidării NADH si $FADH_2$ în lanţul respirator cu transformarea piruvatului în lactat şi a acizilor graşi în trigliceride, blocând sinteza de ATP.

Cauzele disfuncţiei mitocondriale pot fi:

1. Anoxia, hipoxia, CO, cianurile
2. Deficite genetice ale proteinelor ce codifică sinteza complexelor lanţului respirator
3. Deficite sau inhibiţia enzimelor ciclului Krebs

Acidoza lactică congenitală este datorată inhibiţiei piruvat dehidrogenazei (enzimă ce catalizează transformarea piruvatului în acetil CoA) prin deficite ale componentelor lanţului respirator, ce are drept consecinţă creşterea nivelului NADH.

Bolile datorate defectelor în fosforilarea oxidativă se numesc, generic „OXPHOS diseases" şi pot fi cauzate de mutaţii în:

1. *AND-ul mitocondrial*,
2. *AND-ul nuclear* care codifică proteine importante la nivel mitocondrial.

Sindromul Kears-Sayre, care apare până la varsta de 20 de ani şi este caracterizat de: oftalmoplegie, retinită pigmentară, miopatie mitocondrială, defecte la nivelul muşchiul cardiac.

Boala MELAS, boală a mitocondriilor progresivă care cauzează: miopatie, encefalopatie, acidoză lactică şi episoade Stroke-like.

Sindromul Pearson, caracterizat de defecte la nivelul măduvei osoase.

Travaliul muscular

Se cunosc diferite tipuri de celule musculare: *netede, scheletice şi cardiace*.

Proteinele aparatului contractil sunt reprezentate de filamentele de actină şi miozină, fiind controlată de

Scanned with OKEN Scanner

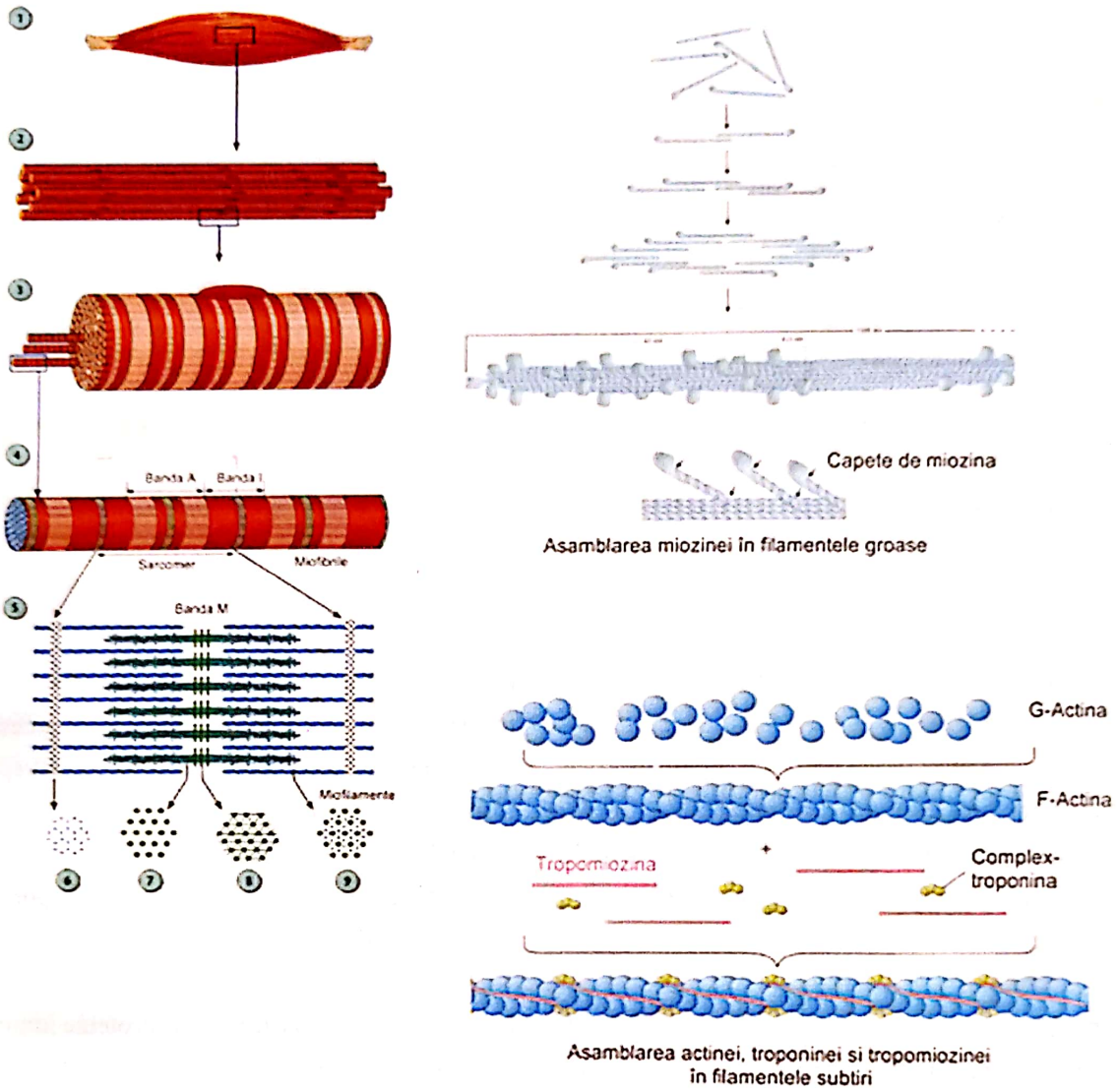


Fig. 12.29. Structura fibrelor musculare (modificată după Petrides Biochemie, 2014)

nivelul calciului intracelular.

În structura mușchiului scheletic actina și miozina sunt organizate în miofibrile, acesta prezentând microscopic un aspect striat. Acest aspect este dat de prezența și organizarea miofibrilelor, vezi Fig. 12.29. Miofibrilele sunt alcătuite din filamente subțiri (principala componentă fiind actina) și filamente groase (în care predomină hexamerii de miozină) (Fig. 12.30).

Unitatea de bază a miofibrilelor este reprezentată de sarcomer.

Mușchii striați sunt controlați voluntar (dorim să executăm o anumită mișcare și acest lucru se întâmplă). Membrana celulară care învelește fibrele musculare este numită sarcolemă. Sarcolema conține o proteină structurală numită distrofină, absența acestei proteine caracterizează boala numită *distrofia*

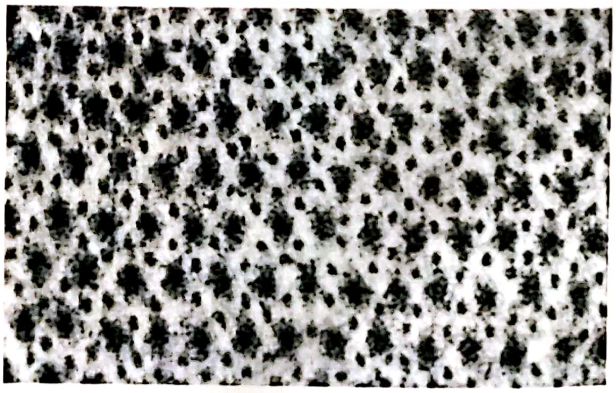


Fig. 12.30. Filamentele groase și subțiri în microscopie electronică (modificată după Petrides Biochemie, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

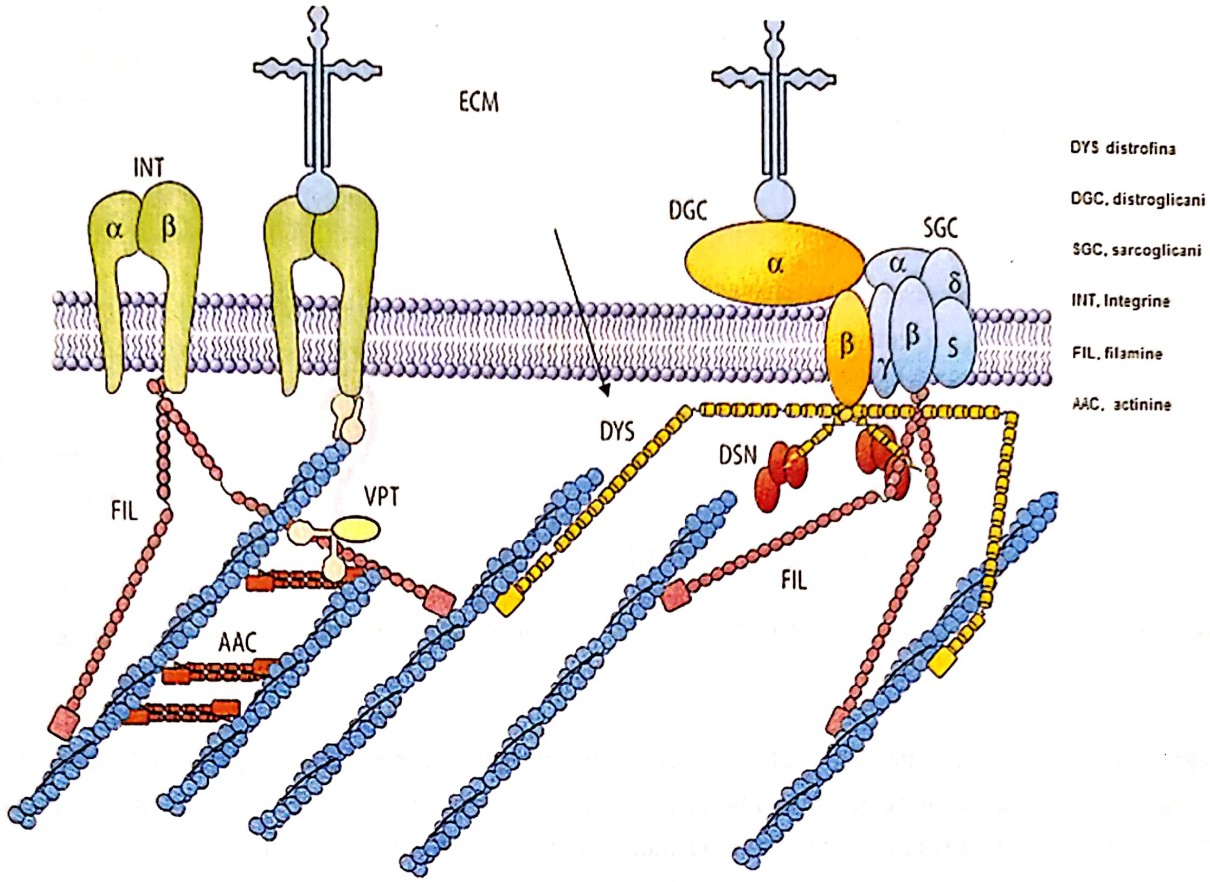


Fig. 12.31. Distrofina (modificată după Petrides Biochemie, 2014)

musculară Duchenne. (Fig. 12.31).

Fibrele musculare pot fi clasificate în două tipuri:

- tipul I – bogate în mitocondrii şi mioglobină ceea ce conferă culoarea roşie muşchilor. Folosesc lanţul respirator cuplat cu fosforilarea oxidativă în vederea obţinerii energiei necesare, sunt relativ rezistente la oboseală, iar rezervele de glicogen sunt scăzute. Ei utilizează preferenţial acizii graşi în vederea obţinerii energiei necesare contracţiei musculare. Contracţia musculară se realizează încet dar poate fi susţinută un timp mai îndelungat.
- tipul II – prezintă câteva mitocondrii şi un nivel scăzut de mioglobină (de aceea ele apar albe). Conţin un nivel crescut de glicogen şi folosesc cu precădere glicoliza şi glicogenoliza ca sursă primară de energie. Contracţia muculară este obţinută rapid dar este de scurtă durată.

Muşchii conţin un amestec din cele două tipuri de fibre, predominând unul sau altul dintre tipuri în funcţie de tipul de activitate. Contracţia musculară este iniţiată de influxul de calciu ca urmare a stimulării nervoase la nivelul plăcii motorii, urmat de eliberarea de calciu din reticulul sarcoplasmic (Fig. 12.32).

O altă structură membranară, tubii T (invaginaţii ale sarcolemei) prezintă *receptorii DHPR* (receptor dihidropiridină) activaţi de polarizarea membranei celulare, receptorii activaţi se leagă şi activează receptorii rianodină (RR) din reticulul endoplasmic. Receptorii rianodină sunt canale de calciu, ce permit eliberarea acestuia din reticulul sarcoplasmic în sarcoplasmă.

În repaus situsul de legare al miozinei de actină este mascat de către tropomiozină. Capătul miozinei este activat în vederea realizării contracţiei musculare.

Eliberarea calciului din reticulul endoplasmic are drept consecinţă legarea acestuia la troponină, schimbarea conformaţiei acesteia şi demascarea situsului de legare al miozinei la actină. Miozina se

Scanned with OKEN Scanner

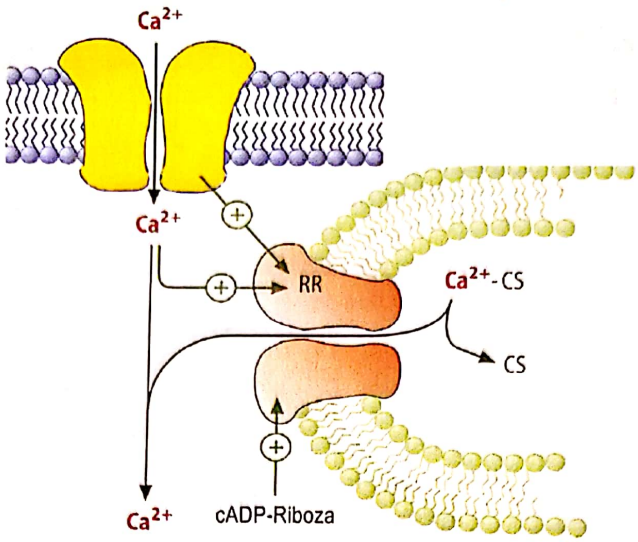


Fig. 12.32. Influxul de calciu la nivelul plăcii motorii (modificată după Petrides Biochemie, 2014)

leagă astfel, la situsul specific de pe actină, energia stocată în piesa "cap" a miozinei este eliberată, ca urmare actina este trasă spre mijlocul sarcomerului, acest proces este denumit "mecanismul glisant" al contracției musculare. ADP și Pi este eliberat de la nivelul piesei "*cap*" a miozinei.

În ultima etapă, o moleculă de ATP se leagă la piesa "*cap*" a miozinei, cu desprinderea concomitentă a miozinei de pe situsul de legare la actină. Activitatea ATP-azică a capătului miozinei, hidrolizează ATP în ADP și Pi, energia eliberată este utilizată pentru a reactiva miozina, apoi întregul ciclu este reluat, vezi

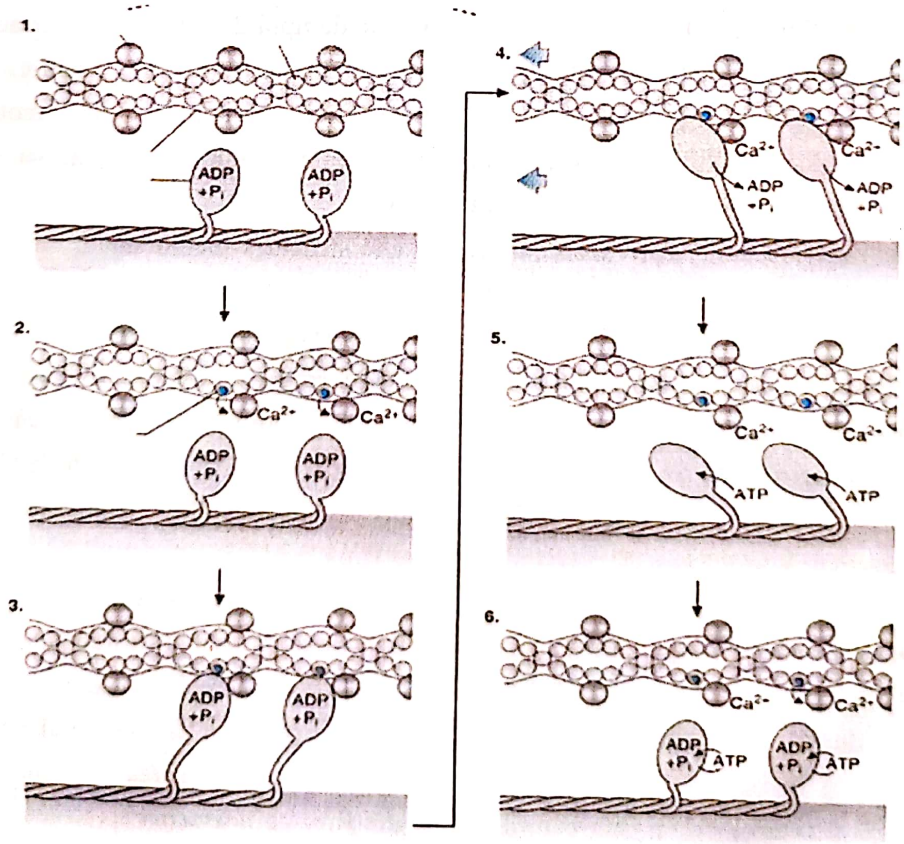


Fig. 12.33. Mecanismul contracției musculare (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 12.33.

Substratul energogen utilizat de mușchii scheletici în vederea obținerii energiei imediate necesare contracției musculare este reprezentat de creatinfosfat. ATP-ul poate fi obținut din glicogen pe cale anaerobă (cu formarea lactatului) sau aerob, situație în care piruvatul este convertit la *acetilCoA*, substrat al ciclului Krebs.

Mușchii scheletici conțin mitocondrii, ei putând oxida acizii grași, corpii cetonici și scheletul de atomi de carbon al unor aminoacizi (alanina, aspartatul, glutamatul, valina, leucina și izoleucina).

Sinteza creatinei începe în rinichi și este finalizată la nivelul ficatului. În rinichi glicina reacționează cu arginina pentru a forma guanidinoacetatul. În această reacție gruparea guanidin a argininei, este transferată glicinei cu formarea ornitinei. De la nivelul rinichiului, guanidinoacetatul este captat de ficat la nivelul căruia este metilat de către *S-adenozinmetionină* (SAM) cu formarea creatinei (Fig. 12.34).

ATP-ul reprezintă o formă de stocare tranzitorie a energiei în organism, deoarece multe reacții alosterice sunt inhibate sau activate de către nivelul de ATP. Celula musculară a rezolvat această problemă prin stocarea energiei sub forma creatinfosfatului.

Creatina formată la nivelul ficatului este eliberată în sânge, este captată de către țesuturi, în mod particular mușchii scheletici, creierul și miocardul,

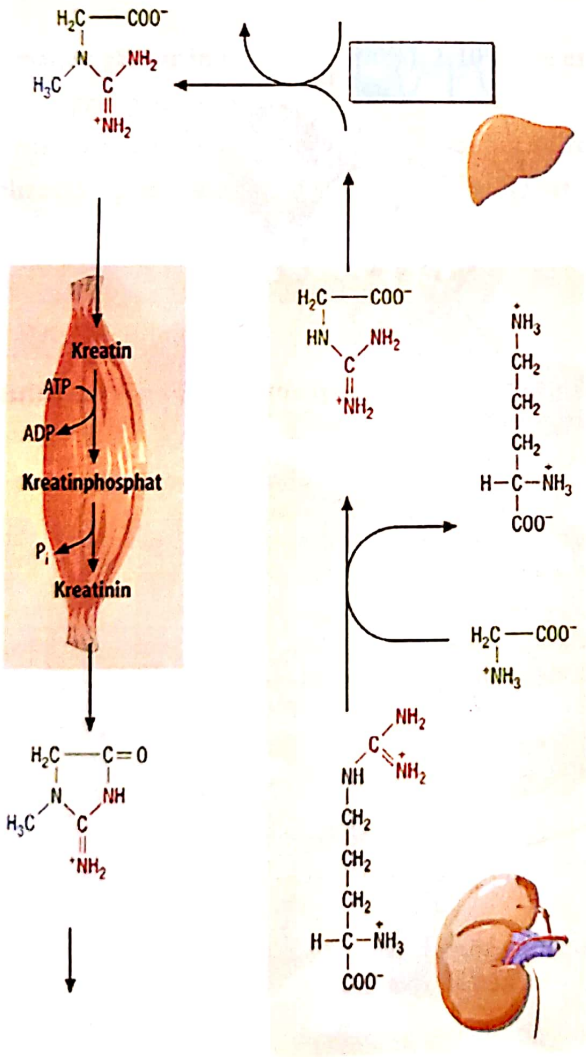


Fig. 4.34. Sinteza creatinei și creatininei (modificată după Petrides Biochemie, 2014)

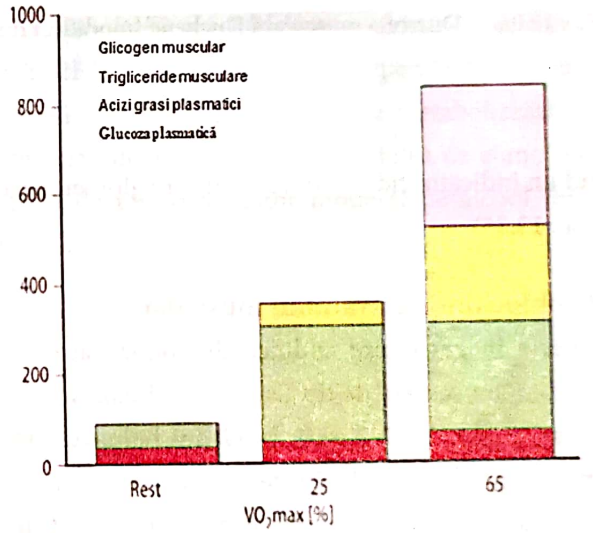


Fig. 4.35. Utilizarea selectiva a substratelor în conditii de repaus si activitate medie si intensa(modificată după Petrides Biochemie, 2014

reacționează la acest nivel cu ATP și formează creatinfosfatul. Reacția este reversibilă și catalizată de creatinfosfokinază (CPK) (Fig. 4.

Creatinfosfatul poate fi reutilizat de către celulă pentru a regenera ATP, jucând un rol important în contracția musculară. Este un compus instabil ce este rapid ciclizat neenzimatic cu formarea creatininei, compus ce nu poate fi utilizat în organism și este eliminat prin urină. Cantitatea cretininei excretată zilnic este direct proporțională cu masa musculară, fi-

Scanned with OKEN Scanner

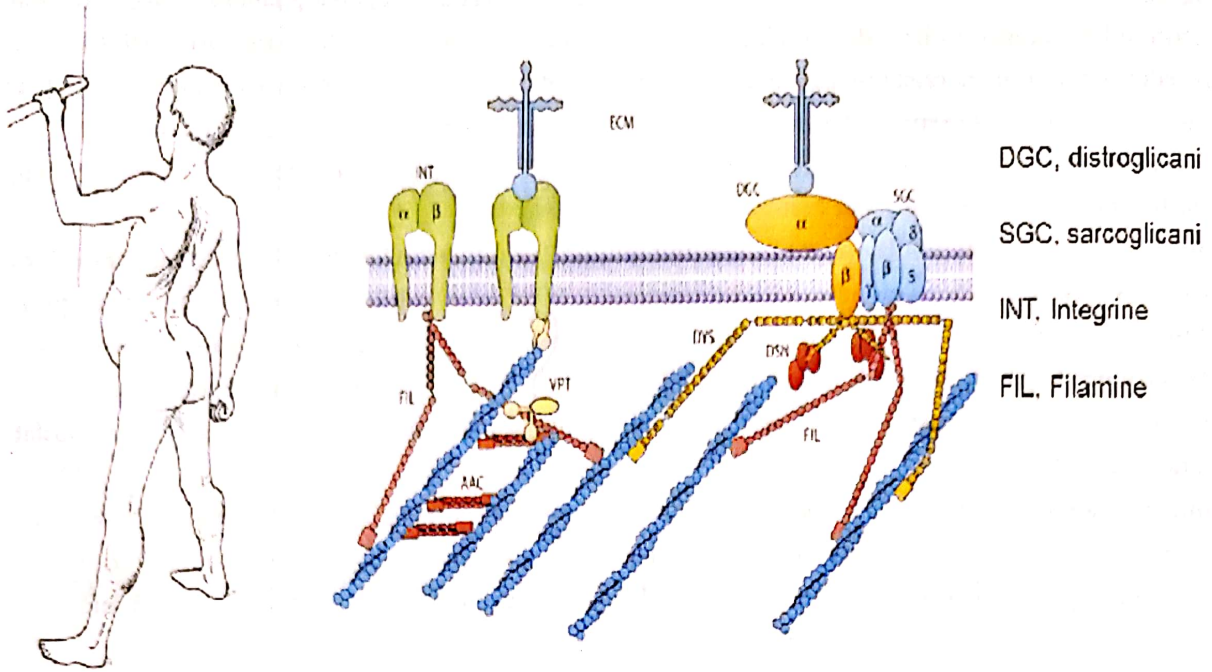


Fig. 12.36. Distrofia musculară Duchene (modificat după Petrides, Biochemie, 2014)

ind un indicator fidel al ratei de filtrare glomerulară (Fig. 12.35).

Patobiochimia travaliului muscular

Defecte în gena care codifică distrofina cauzează distrofia musculară de tip Duchenne. Boala se manifestă timpuriu (2-3 ani), la 12 ani bolnavul este imobilizat în scaun, la 20 de ani survine moartea de obicei datorită unor complicații pulmonare (Fig. 12.36).

Defecte în gena care codifică proteine sarcomerice cauzează *cardiomiopatia hipertrofică* (Fig. 12.37).

Defecte în gena care codifică glicogenfosforilaza musculară cauzează *sindromul McArdle*. Pacienții dau semne de oboseală la cel mai mic efort.

Metabolismul etanolului

Etanolul (CH_3-CH_2-OH) este un compus din dietă ce este metabolizat la acetat în principal în ficat. Este o moleculă solubilă în apă și lipide si de aceea este absorbit ușor la nivelul intestinului prin difuzie pasivă.

Calea majoră de oxidare a etanolului în organismul

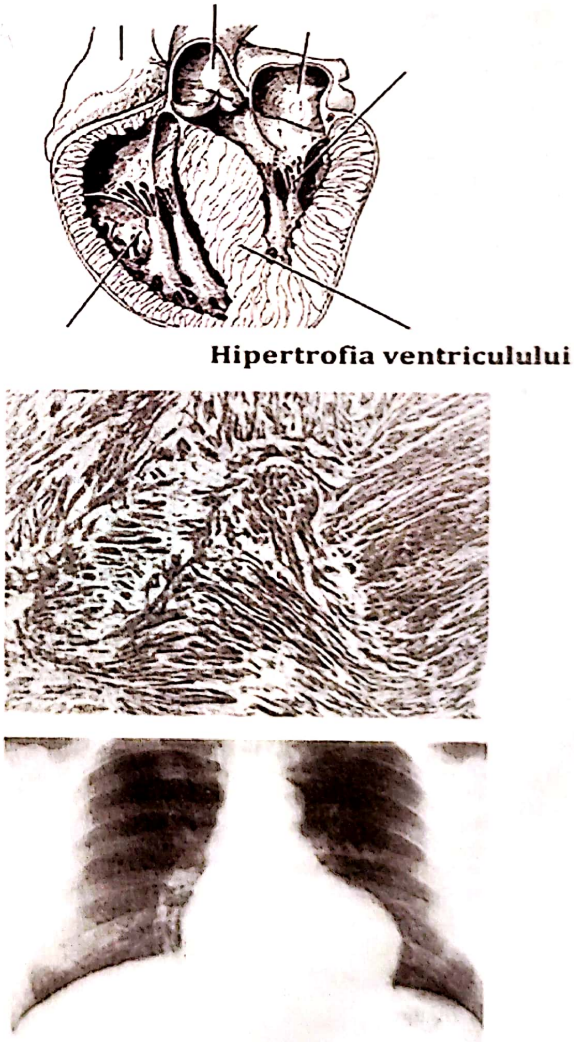


Fig. 12.37. Cardiomiopatia hipertrofică (modificat după Robins and Cotran, Pathology, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

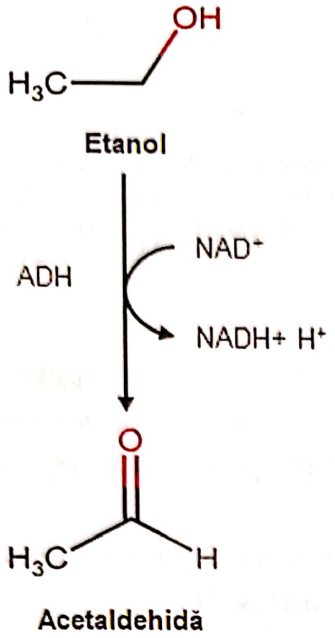


Fig. 12.38. Sinteza acetaldehidei şi a acetatului

uman se găseşte în ficat (80% - 90%), 2-10% este excretat prin plămâni şi rinichi.

Principala cale de metabolizare a etanolului se realizează prin intermediul *alcooldehidrogenazei*, enzimă citosolică ce oxidează NAD^+ la NADH cu formare de acetaldehidă. (Fig. 12.38). Dacă nu este îndepărtată prin metabolizare, acetaldehida este toxică pentru ficat şi ţesuturi.

Cea mai mare parte a acetaldehidei formată din etanol sub acţiunea *alcooldehidrogenazei* este metabolizată la acetat la nivelul ficatului printr-o reacţie catalizată de *acetaldehid dehidrogenază*. Acetatul este un compus netoxic ce poate fi eliminat în circulaţia sanguină şi captat de ţesuturi unde este transformat în acetilCoA intrând apoi în ciclul Krebs sau în calea de sinteză a acizilor graşi (Fig. 12.39).

O altă cale de metabolizare a etanolului la nivelul ficatului este reprezentată de oxidarea etanolului la nivelul microsomilor (MEOS) ce oxidează etanolul la acetaldehidă. Principala enzimă implicată fiind citocrom *P450 mixed-function oxidaze isoenzyme* (CYP2E1), enzimă NADPH-dependentă ce utilizează oxigen. Pe această cale se metabolizează în organism doar 10-20% din cantitatea de etanol ingerată de un consumator moderat de alcool (Fig. 12.40).

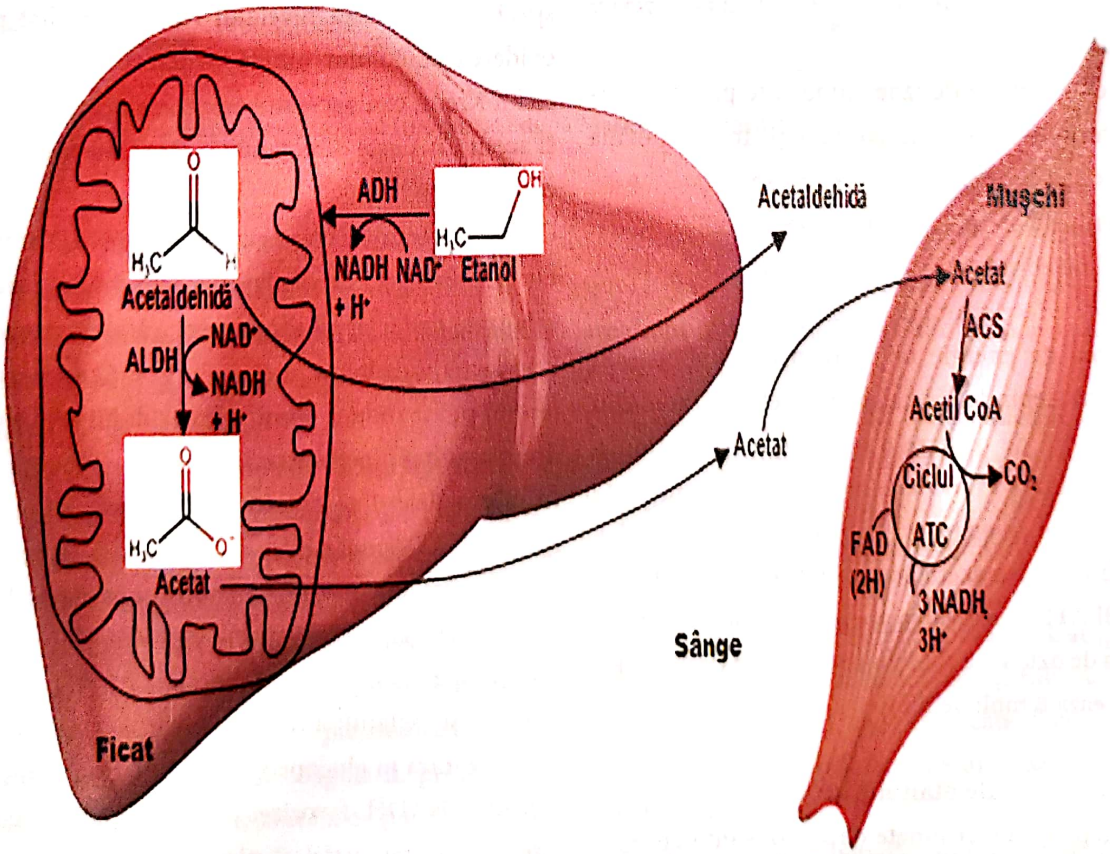


Fig. 12.39. Metabolismul etanolului (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

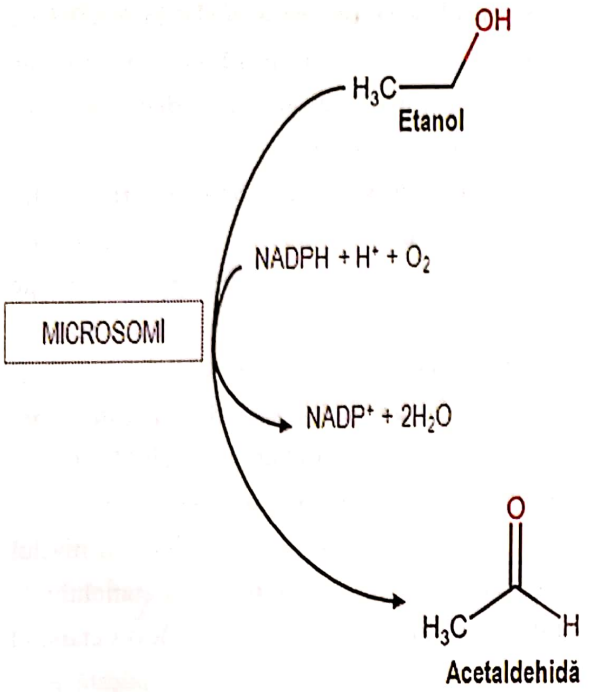


Fig. 12.40. Sinteza acetaldehidei (după Marks Biochemistry, 2005)

Enzimele implicate în metabolismul etanolului:

- *alcohol dehidrogenaza (ADH)*
- *acetaldehid dehidrohenaza, ALDH*
- *cytochrome P450 mixed-function oxidase isozyme (CYP2E1)*

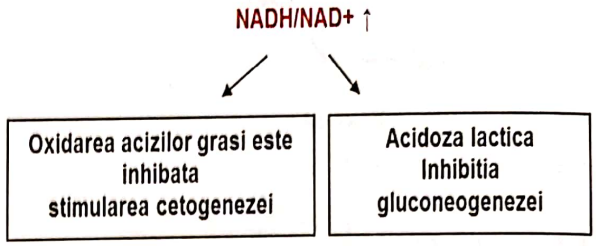
Există ca o familie de izoenzime care prezintă variaţii interindividuale. Aceste variaţii în compoziţia indivuiduală a izoenzimelor determină:

- clearence-ul etanolului din sânge
- gradul de ebrietate
- riscul de a face ciroza hepatică.

Cantitatea de energie obţinută prin catabolizarea etanolului depinde de calea de metabolizare. Din calea majoră de oxidare a etanolului sub acţiunea ADH şi ALDH mitocondrială se obţin 13 moli de ATP per mol de etanol (5 moli ATP din 2NADH + 10 moli ATP din acetilCoA ce intră în ciclul Krebs – 2 moli ATP în activarea acetatului la acetilCoA). Pe calea de oxidare a etanolului catalizată de CYP2E1 se formează 8 moli de ATP.

Efectele toxice ale etanolului

Bolile hepatice determinate de alcool sunt determinate de consumul cronic de alcool şi se încadrează



în trei mari categorii: steatoză hepatică (ficat gras), hepatită indusă de alcool şi ciroză hepatică. Aceste entităţi patologice pot fi prezente separat sau asociate.

Consumul exagerat de alcool duce la cresterea raportului NADH/NAD^+.

Multe dintre efectele toxice ale etanolului se datorează creşterii raportului NADH/NAD^+ care inhibă oxidarea acizilor graşi şi ciclul acizilor tricarboxilici, rezultând o acumulare de acizi graşi. Acizii graşi sunt reesterificaţi la *glicerol 3 fosfat* (Fig. 12.41). Totodată raportul NADH/NAD crescut favorizează formarea glicerol 3-fosfatului din dihidroxiacetonfosfat (intermediar al glicolizei). Etanolul stimulează sinteza trigliceridelor prin inducţia enzimelor specifice. Creşterea nivelului NADH rezultat prin oxidarea etanolului inhibă oxidarea acetilCoA în ciclul Krebs, oxaloacetatul este transformat în malat şi acetil CoA este direcţionată către sinteza de corpi cetonici.

O altă consecinţă a creşterii raportului NADH/NAD este reprezentată de deplasarea echilibrului reacţiei calalizate de lactatdehidrogenază, către formarea de acid lactic, rezultând acidoză lactică. Creşterea lactatului poate reduce eliminarea acidului uric având drept rezultat hiperuricemie.

În perioadele interdigestive, creşterea raportului NADH/NAD^+ poate duce la hipoglicemie, la persoanele care au consumat alcool şi sunt dependente de gluconeogeneză pentru a menţine nivelul glucozei sanguine.

Alanina şi lactatul sunt principalii *compuşi glucogenici* ce intră în gluconeogeneză ca lactat, creşterea nivelului NADH favorizează transformarea piruvatului în lactat, astfel că piruvatul format din ala-

Scanned with OKEN Scanner

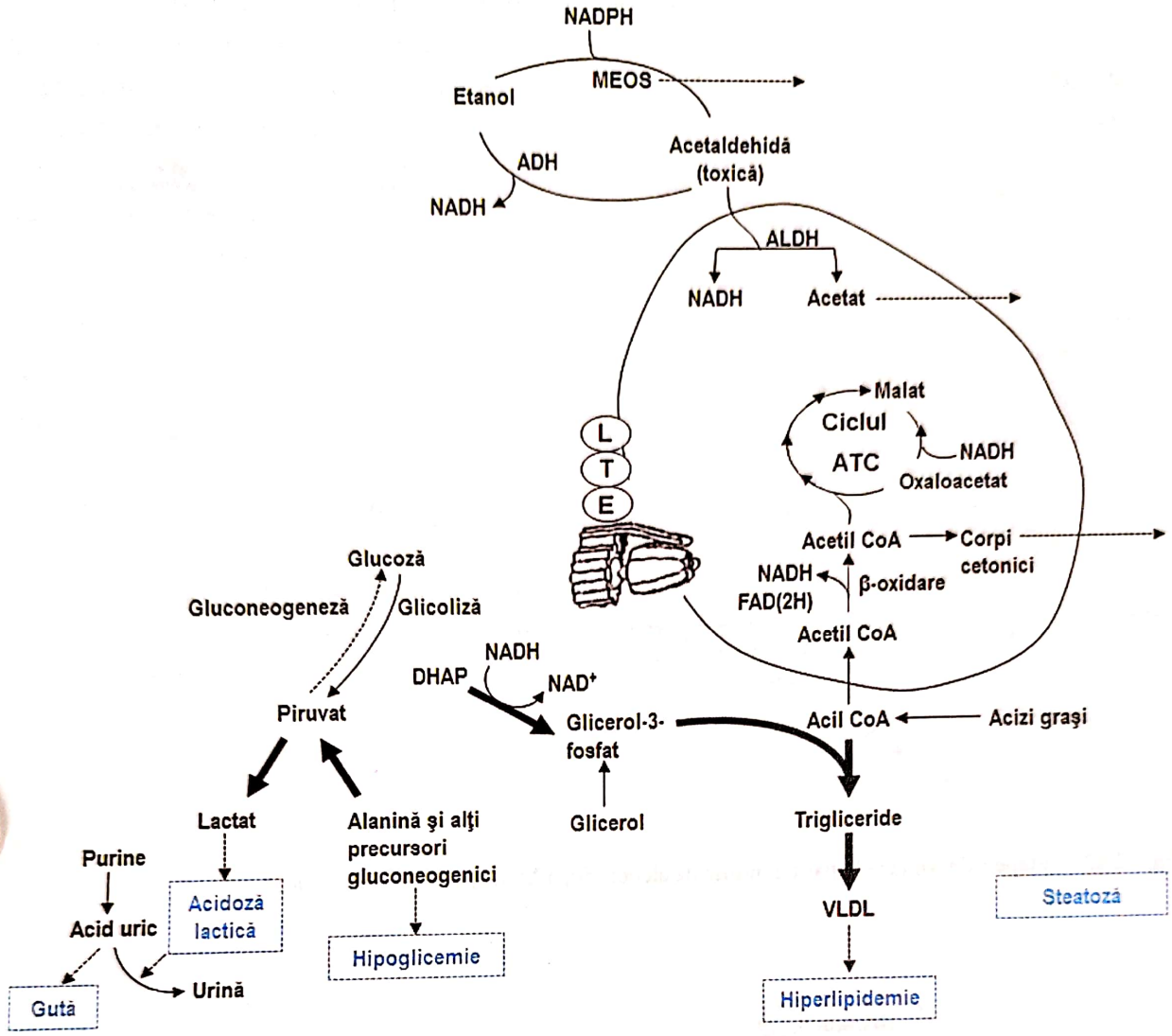


Fig. 12.41. Efectele toxice ale etanolului (modificată după Marks Biochemistry, 2005)

nină fiind transformat în lactat nu mai poate intra în gluconeogeneză. Compuşi precum oxaloacetatul şi glicerolul sunt şi ei împiedicaţi să intre în gluconeogeneză (Fig. 12.42).

La polul opus este consumul de alcool împreună cu alimente care poate determina apariţia unei hiperglicemii tranzitorii, prin inhibiţia de către NADH a glicolizei şi gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazei.

Legarea acetaldehidei la aminoacizi are drept consecinţă blocarea sintezei proteice la nivelul ficatului. Ficatul sintetizează proteine plasmatice precum albumina serică, factori ai coagulării, proteine de transport ale vitaminelor, steroizilor şi fierului. Aceste proteine împreună cu lipide se acumulează la nivelul hepatocitelor, determinând un influx de apă ce are drept rezultat hipertensiune portală şi alterarea arhitecturii hepatice.

Condensarea acetaldehidei cu glutationul are drept consecinţă eliberarea de radicali liberi, aceştia rezultă şi din reacţia catalizată de MEOS. Radicalii liberi sunt responsabili de peroxidarea lipidelor şi de distrucţia celulară.

Degradarea mitocondriilor inhibă lanţul transportorilor de oxigen şi electroni consecinţa fiind scăderea oxidării acetaldehidei. Celulele lezate deversează în plasmă enzime intracelulare precum transaminazele (GOT, GPT).

Dezvoltarea fibrozei hepatice induse de alcool este

Scanned with OKEN Scanner

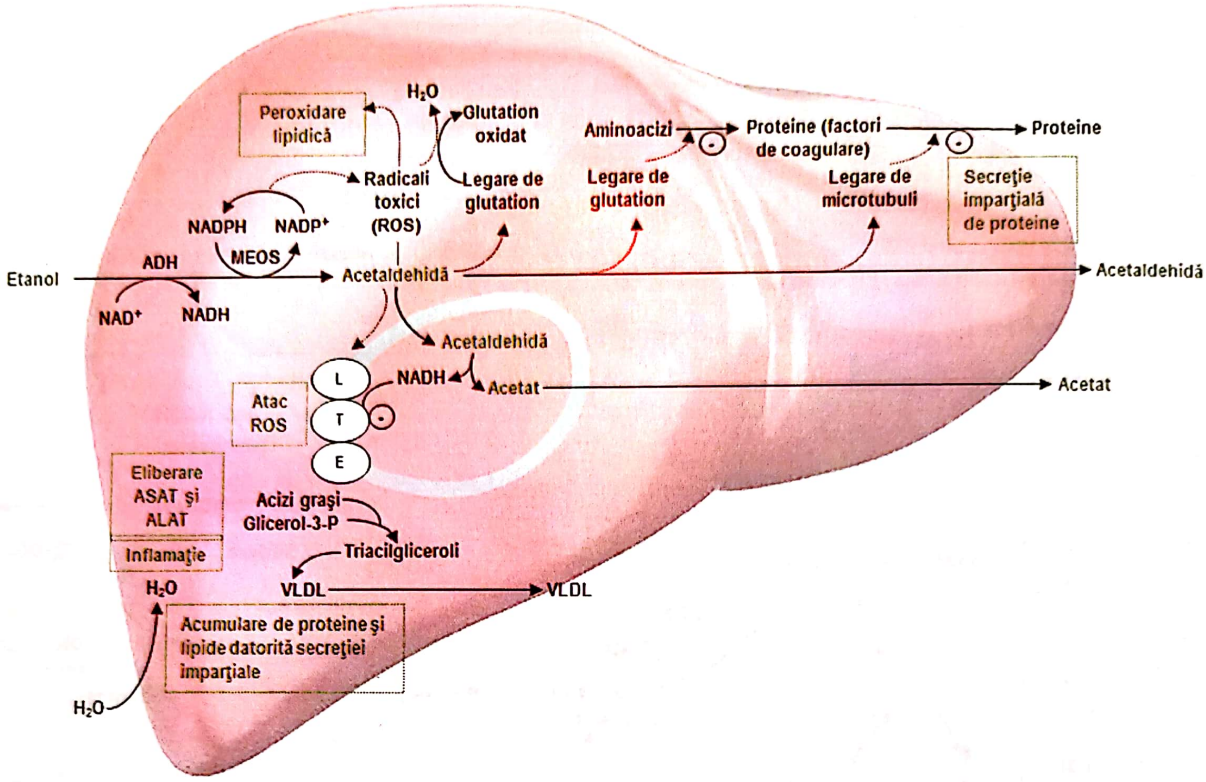


Fig. 12.42. Etapele dezvoltării hepatitei induse de alcool (după Marks, Biochemistry, 2005)

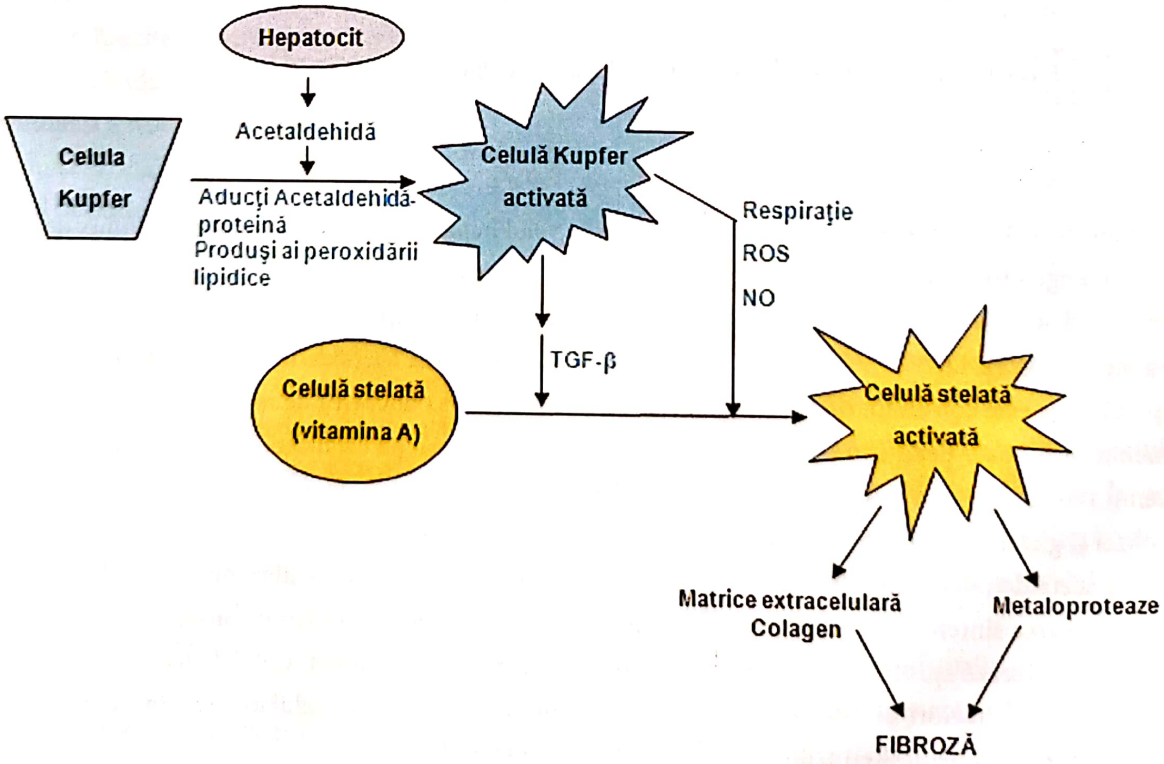


Fig. 12.43. Etapele dezvoltării fibrozei hepatice (după Marks, Biochemistry, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

în strânsă legătură cu stimularea transformării celulelor stelate (Ito) în miofibroblaşti şi cu stimularea producţiei de colagen tip I şi fibronectină. Etapa iniţială de activare a celulelor stelate este activarea celulelor Kupffer (macrofage localizate la nivelul sinusoidelor hepatice), probabil de către produşii de degradare ai hepatocitului (resturi celulare, fier, ROS, NO).

Celulele Kupffer activate secretă citokine, chemokine, prostaglandine şi alte molecule reactive ce activează celulele stelate (Fig. 12.43).

Citokinele sunt proteine secretate de celulele inflamatorii ce servesc drept căi de comunicare cu alte celule.

Chemokinele sunt proteine mici produse de către celulele inflamatorii ce stimulează migrarea altor celule inflamatorii.

Bibliografie

1. C. Smith, A. Marks, M. Liebermann. Basic Medical Biochemistry. A clinical approach. Lippincot William & Wilkins, S.U.A, 2005.
2. Georg Löffler, Petro Petrides, Peter Heinrich. Biochemie und Pathobiochemie. Hardcover Publisher: Springer, 2005;
3. David Nelson, Michael Cox. Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman, ediţia a3a, 2000.
4. V. Kumar et al. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. A Saunders Title; ediţia a7a, 2005;
5. V. Dinu, E. Truţia, E. Popa Cristea, A. Popescu. Biochimie medicală. Mic tratat. Ed. Medicală, Bucureşti, 1998.
6. A. Anghel, D. Grecu, A. Mihala, F. Sfrijan, M. Motoc, L. Tămaş, D. Nariţa. Biochimie clinică. Principii şi aplicaţii. Pentru studenţii facultăţilor de medicină. Ed. Eurostampa, Timişoara, 2006.

Scanned with OKEN Scanner

13. METABOLISMUL PROTEINELOR ŞI ACIZILOR NUCLEICI

Metabolismul proteic este deosebit de complex, prezentând două aspecte: anabolismul (sinteza) şi catabolismul (degradarea). Şi în cazul proteinelor (atât a celor din alimente cât şi a celor din ţesuturi) etapa iniţială de degradare constă în hidroliza acestora cu eliberarea aminoacizilor componenţi. Etapele ce urmează sunt complexe şi constau în utilizarea aminoacizilor pentru producerea de energie sau pentru sinteza glucide, lipide precum şi a unui număr însemnat de compuşi cu funcţii biologice importante.

Digestia şi absorbţia proteinelor

Digestia proteinelor începe în stomac sub acţiunea enzimelor proteolitice şi se termină la nivelul intestinului. Enzimele ce hidrolizează proteinele sunt sintetizate ca precursori inactivi numiţi zimogeni, mult mai mari decât enzimele active. De la nivelul celulelor care îi sintetizează, zimogenii sunt eliberaţi în lumenul intestinal unde sunt scindati în molecule mai mici, active. Deşi toate aceste enzime catalizează hidroliza legăturilor peptidice, între ele există diferenţe de specificitate. Pentru digestia completă a proteinelor la aminoacizii componenţi şi peptone este necesară acţiunea lor concertată.

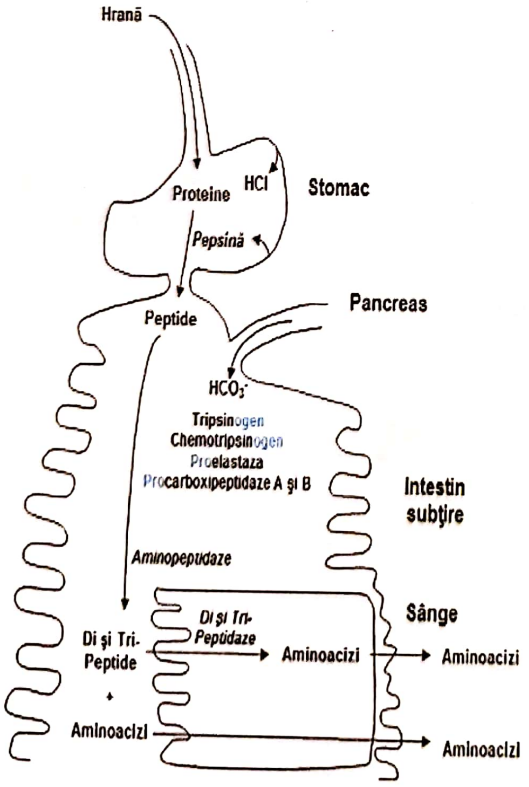


Fig. 13.1. Digestia proteinelor (modificată după Marks, 2005)

Digestia proteinelor la nivelul stomacului

Pepsinogenul este secretat de către celulele parietale ale mucoasei gastrice care in prezenta sucului gastric (acid) are loc clivarea pepsinogenului la pepsina activă. Activarea pepsinogenului are loc şi autocatalitic. Pepsina acţionează optim la pH=2, ca o endopeptidază care atacă specific legăturile peptidice din lanţul proteic la care participă în special aminoacizi aromatici şi în mai mică măsură metionina şi leucina. În urma acţiunii endopeptidazei se formează fragmente proteice mici.

Gastricsina (pepsina C) se formează alături de pepsină prin activarea pepsinogenului într-un mod diferit. pH-ul optim de acţiune al gastricsinei este ceva mai mare decât al pepsinei, aproximativ 3. Din acest motiv gastricsina acţionează predominant la sugari unde sucul gastric are o aciditate ceva mai mare.

Chimozina (labfermentul) este prezentă doar în sucul gastric al sugarului şi are funcţia principală de coagulare a laptelui, favorizând astfel acţiunea pepsinei.

Digestia proteinelor la nivelul intestinului

Conţinutul gastric este deversat în intestin unde con-

Scanned with OKEN Scanner

tinuă digestia începută în stomac, sub acţiunea sucului pancreatic, secretat de pancreasul exocrin. La acest nivel bicarbonatul inactivează zimogenii din sucul gastric ce ajung în intestin odată cu alimentele. Sucul pancreatic este secretat în intestinul subţire şi conţine zimogeni precum: tripsinogen, chimotripsinogen, proelastază şi procarboxipeptidază.

Sub acţiunea enterokinazei (secretă la nivelul „marginii în perie" a enterocitelor) dar şi autocatalitic, tripsinogenul este transformat în tripsină activă. Tripsina scindează chimotripsinogenul la chimitripsină, proelastaza la elastază şi procarboxipeptidaza la carboxipeptidază. Tripsina joacă astfel un rol central în digestia proteinelor atât prin clivarea proteinelor din dietă cât şi prin activarea altor proteaze din sucul pancreatic. (Fig.13.1)

Tripsina, chimotripsina şi elastaza sunt serinproteaze ce acţionează ca endopeptidaze. Tripsina fiind enzima cu specificitate cea mai mare, scindează legăturile peptidice la care participă arginina si lizina.

Chimotripsina este o endopeptidază care asigură scindarea legăturilor peptidice la care participă cu gruparea carboxil, fenilalanina, tirozina şi triptofanul. Elastaza este o endopeptidază ce hidrolizează elastina şi alte proteine la nivelul legăturilor peptidice la care participă aminoacizi cu caracater hidrofob.

Carboxipeptidaza este o exopeptidază ce îndepărtează aminoacizii de la capătul carboxi terminal al lanţului peptidic. Exista două tipuri de carboxipeptidază, carboxipeptidaza A care scindează preferenţial aminoacizii cu caracter hidrofob, şi carboxipeptidaza B ce scindează aminoacizii cu caracter bazic.

Ultima etapă a digestiei proteinelor constă în acţiunea exopeptidazelor secretate la nivelul „marginii în perie a enterocitelor". Astfel, aminopeptidaza este o exopeptidază ce scindează specific aminoacizii de la nivelul capetelor N-terminale ale peptidelor, iar dipeptidazele asigură ruperea ultimelor legături peptidice.

Absorbţia aminoacizilor din lumenul intestinal se realizează cu ajutorul unor translocaze, proteine de

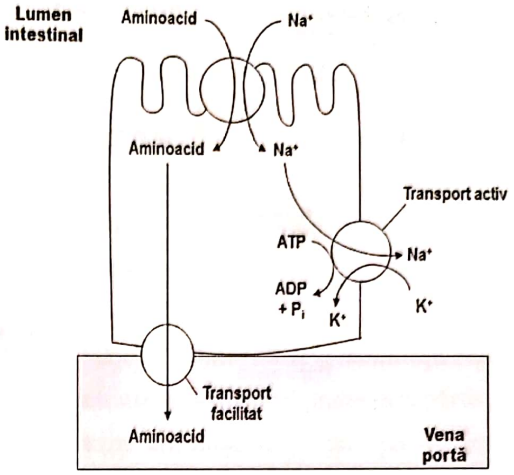


Fig. 13.2. Lumen intestinal

transport semispecifice dependente de Na^+. Acestea transportă co-simport Na şi aminoacizii din lumenul intestinal în enterocite. Na^+ este scos din celulă în lumenul intestinal cu ajutorul pompei de Na-K. La nivelul marginii în perie sunt localizate 6 transportori diferiţi ai aminoacizilor. Un transportor are specificitate pentru anumiţi aminoacizi: există un transportor pentru aminoacizi neutri, altul pentru prolină şi hidroxiprolină, aminoacizii cu caracter acid şi cei cu caracter bazic prezintă transportori specifici.

Pe lângă aceşti transportori simport cu Na, unii aminoacizi pot fi transportaţi prin membrana bazală prin difuzie facilitată. Aminoacizii ies din celulă în sistemul port hepatic prin difuzie facilitată. (Fig. 13.2)

În comparaţie cu metabolismul glucidelor şi lipidelor, metabolismul aminoacizilor este un proces complex, ce cuprinde atât utilizarea atomilor de carbon cât şi a celor de azot, (Fig.13.3). După o masă bogată în proteine, aminoacizii eliberaţi prin digestie trec din intestin în vena portă hepatică şi ajung la ficat, unde sunt utilizaţi pentru sinteza proteinelor în ficat în special a proteinelor serice precum albumina. Excesul de aminoacizi este convertit în glucoză sau triacilgliceroli. Glucoza produsă din aminoacizii din dietă este stocată sub formă de glicogen sau eliberată în sânge dacă nivelul acesteia este scăzut.

Scanned with OKEN Scanner

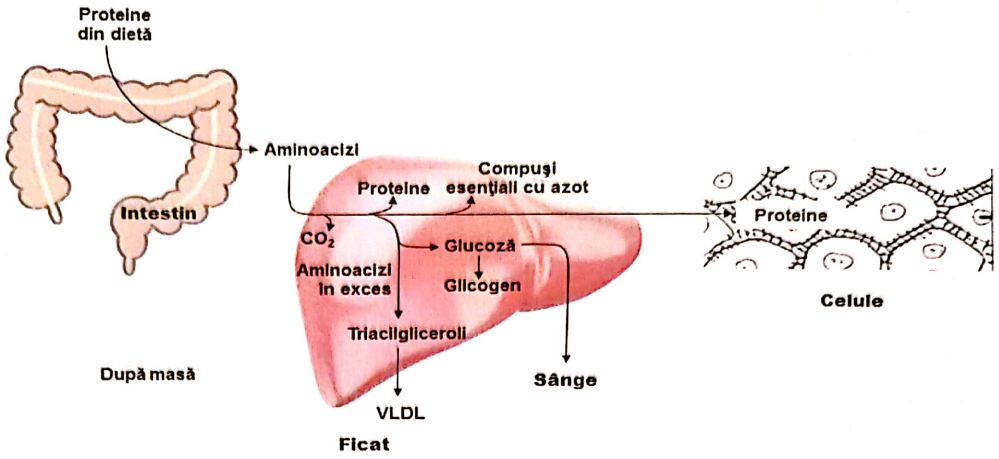


Fig. 13.3. Metabolismul proteinelor (modificată după Marks, 2005)

Aminoacizii din sânge sunt preluati de ţesuturi unde sunt convertiţi în proteine. În repaus alimentar, predomină procesele catabolice. Aminoacizii din proteinele musculare sunt eliberaţi, unii dintre ei intrând direct în sânge, alţii sunt convertiţi la alanină şi glutamină care ulterior sunt eliberaţi în circulaţie. Alanina este produsă şi din glucoză. (Fig.13.4)

Amoniacul are efect nociv asupra organismului, în special asupra creierului din acest motiv trebuie rapid încorporat în compuşi netoxici sau eliminat din organism. Singura utilizare a amoniacului fiind în sinteza unor aminoacizi neesenţiali, restul este eliminat printr-un proces complicat, dar care se desfăşoară cu o mare eficienţă. La nivelul rinichiului glutamina eliberează amoniacul în urină transformându-se în alanină şi serină. La nivelul

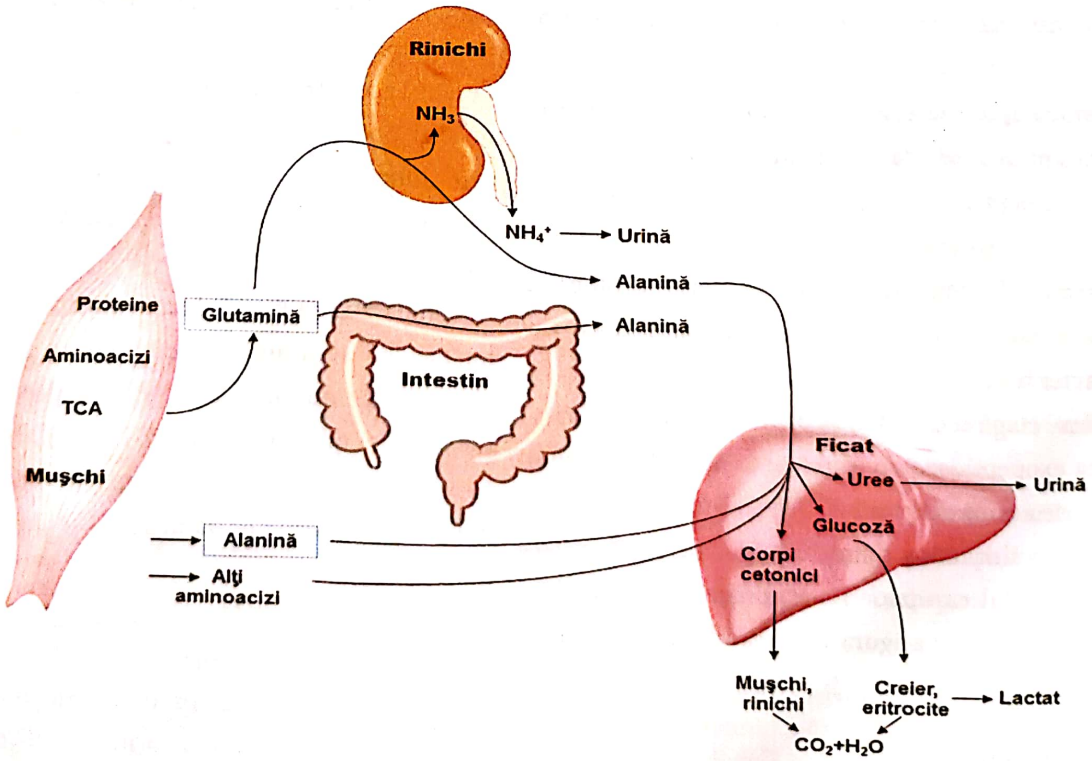


Fig. 13.4. Repaus alimentar (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

enterocitelor glutamina este convertită la alanină. Alanina (aminoacidul glucogenic major) și alți aminoacizi ajung la ficat. In ficat azotul este convertit în uree și eliminat pe care renală, atomii de carbon fiind convertiți în glucoză și corpi cetonici, ce sunt oxidați de către diferite țesuturi în vederea obținerii energiei. Diversitatea structurală a aminoacizilor are drept consecințe și o mare diversitate a căilor de degradare a acestora. Există totuși și căi comune: dezaminarea oxidativă sau ureogeneza.

Dezaminarea oxidativă a aminoacizilor (transaminare)

Reprezintă prima etapă în degradarea aminoacizilor și constă în dezaminarea lor, un proces major de înlăturare a azotului din structura aminoacizilor. Gruparea amino este transferată de pe un aminoacid pe un α-cetoacid (piruvic, oxalilacetic sau α-cetoglutaric) cu formarea α-cetoacidului corespunzător. (Fig.13.5)

Reacțiile de transaminare sunt reversibile, enzimele ce catalizează aceste reacții se numesc transaminaze sau aminotransferaze și au drept cofactor piridoxal-

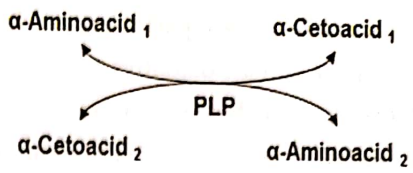


Fig. 13.5. Transformare aminoacizilor în cetoacizi

fosfatul (PALPO). Datorită reversibilității reacțiilor de transaminare, organismul poate îndepărta azotul din structura aminoacizilor sau poate transfera azotul unui cetoacid cu formarea aminoacizilor corespunzători, fiind implicate atât în sinteza cât și în degradarea aminoacizilor. (Fig.13.6)

În metabolismul aminoacizilor, glutamatul ocupă o poziție cheie, fiind implicat atât în sinteza cât și în degradarea acestora. În sinteza aminoacizilor, glutamatul transferă gruparea amino unui α-cetoacid printr-o reacție de transaminare cu formarea aminoacidului corespunzător sau prin reactia de dehidrogenare catalizată de glutamatdehidrogenază, ce folosește drept coenzimă NAD^+ sau $NADP^+$ și are drept rezultat formarea ionului de amoniu.

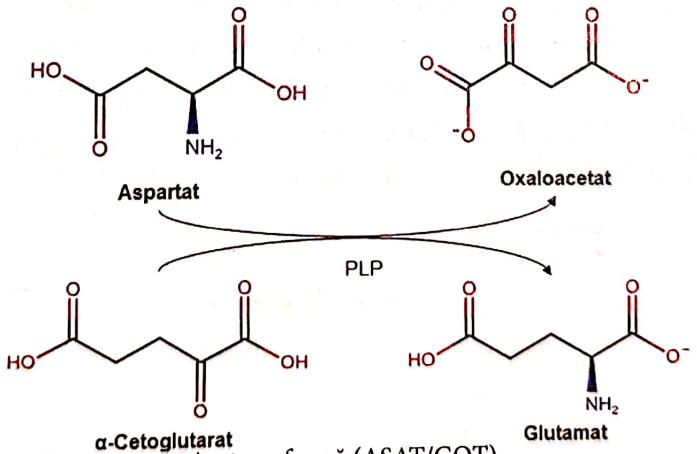


Fig. 13.6. Reacția catalizată de aspartat aminotransferază (ASAT/GOT)

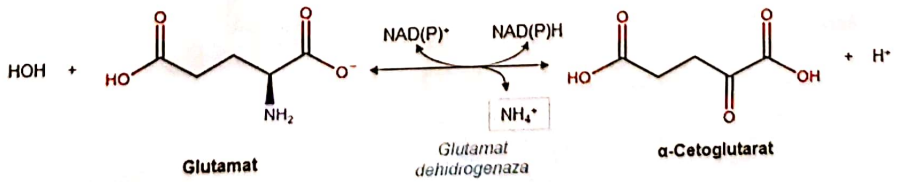


Fig. 13.7. Dezaminarea glutamatului

Scanned with OKEN Scanner

Alte surse de amoniac

În organism, cea mai mare parte a amoniacului se formează prin dezaminare oxidativă a aminoacizilor. Prin oxidarea aminelor, hidroliza ureei (catalizată de urează) şi degradarea sub acţiunea florei microbiene a resturilor de proteine din intestin rezultă cantităţi suplimentare de amoniac sau ioni amoniu ($NH4^+$). Cele două forme ale azotului sunt interconvertibile, ionul amoniu poate ceda protoni formând amoniac. Amoniacul este forma care poate străbate cu uşurinţă membranele celulare. La nivelul rinichiului poate trece prin membrana celulelor tubulare renale în urină, acceptă protoni şi formează ioni amoniu, scăzând astfel aciditatea urinară. Dezaminarea nucleotidelor purinice şi pirimidinice reprezintă o altă sursă de amoniac în organism.

Toate reacţiile sunt ireversibile cu exceptia celei catalizată de glutamatdehidrogenază. Glutamatul poate fi dezaminat oxidativ prin reacţia catalizată de glutamatdehidrogenază (GDH) cu formarea ionilor amoniu şi α-cetoglutarat (Fig. 13.7). Acestă reacţie fiind reversibilă, celulele pot încorpora amoniacul sub formă de glutamat sau pot elibera amoniacul din acesta. Prin reacţia de transaminare, glutamatul poate accepta gruparea amino de la alţi aminoacizi şi o poate elibera prin reacţia catalizată de glutamatdehidrogenază, acest proces reprezentând o sursă de amoniac pentru ureogeneză (Fig. 13.8).

Glutamina este amida acidului glutamic si prin urmare contine un atom de azot suplimentar. Reacţia catalizată de glutaminază este importantă la nivelul rinichiului, unde amoniacul rezultat prin hidroliza glutaminei, neutralizează compuşii cu caracter acid şi menajează rezervele alcaline, în special ionii de Na^+ şi K^+. (Fig.13.9).

Amoniacul are efect nociv asupra organismului, în special asupra creierului din acest motiv trebuie rapid încorporat în compuşi netoxici sau eliminat din organism. Singura utilizare a amoniacului fiind în sinteza unor aminoacizi neesenţiali, restul este eliminat printr-un proces complicat dar care se desfăşoară cu o mare eficienţă.

În metabolismul aminoacizilor, glutamatul ocupă o poziţie cheie, fiind implicat atât în sinteza cât şi în

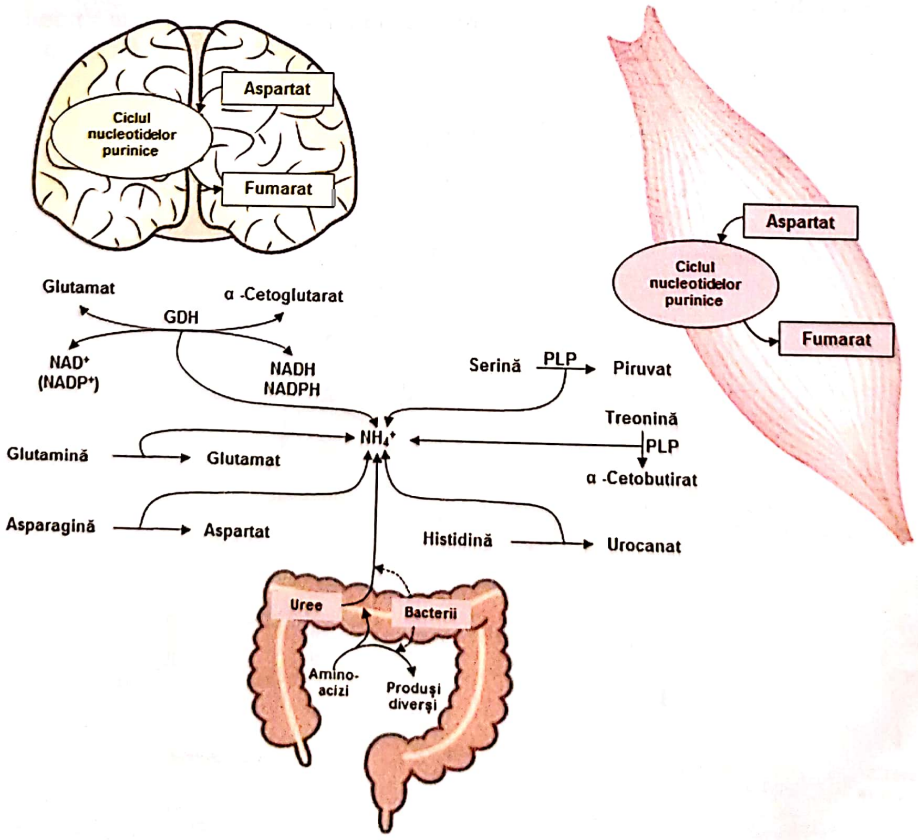


Fig. 13.8. Sursele de amoniac din organism (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

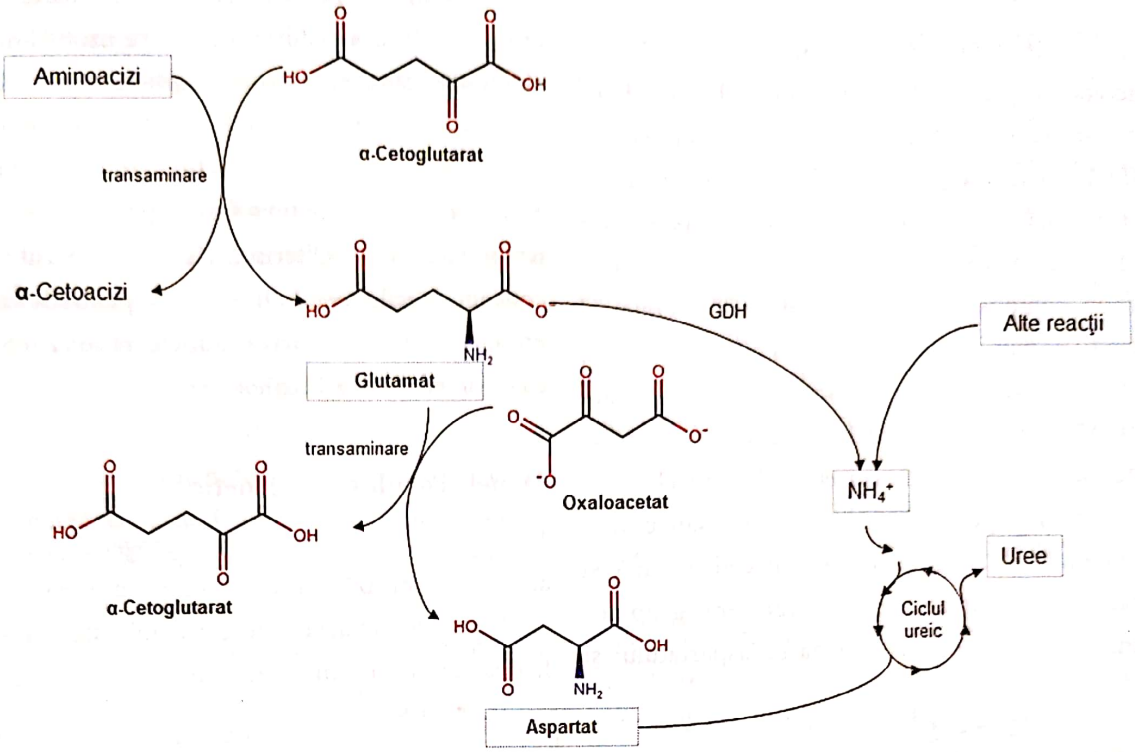


Fig. 13.9. Rolul glutamatului în producerea ureei (după Marks, 2005)

degradarea acestora.

În sinteza aminoacizilor, glutamatul transferă gruparea amino unui α-cetoacid printr-o reacţie de transaminare cu formarea aminoacidului corespunzător sau prin reactia de dehidrogenare catalizată de glutamatdehidrogenază, ce foloseşte drept coenzimă NAD^+ sau $NADP^+$ şi are drept rezultat formarea ionului amoniu. Ionul amoniu este una dintre formele sub care azotul intra în ciclul ureogenetic.

Glutamatul poate transfera gruparea amino pe oxaloacetat cu formarea aspartatului şi α-cetoglutaratului . Aspartatul fiind cea de a 2a formă sub care azotul intră în ciclul ureogenetic.

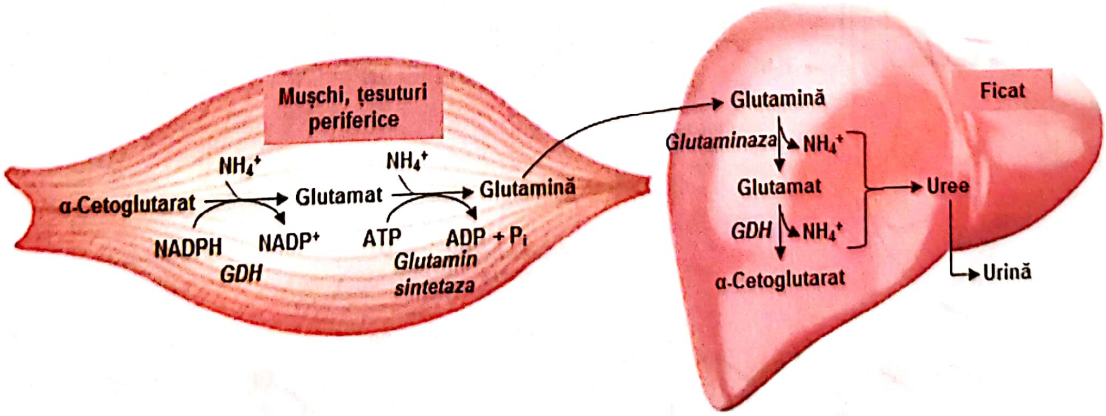


Fig. 13.10. Interrelaţia dintre muşchi şi ficat (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Ciclul ureogenetic

La om, există o balanţă a azotului, cantitatea de azot ingerată, în special sub formă proteinelor din dietă, fiind aproximativ egală cu cea excretată. Forma majoră de excreţie a amoniacului din organism este reprezentată de uree, compus solubil în apă si uşor de eliminat pe cale renală (Fig. 13.10). Amoniacul este un compus toxic în special pentru creier şi sistemul nervos central, de aceea el este transformat la nivelul ficatului în uree. Procesul de transformare se numeste ciclul ureogenetic, proces complex ce se desfăşoară cu o eficienţă deosebită (Fig. 13.11).

Forma de transport a amoniacului prin sânge fiind reprezentată de aminoacizi, în special alanină şi glutamină. Glutamatul poate transfera gruparea amino pe oxaloacetat cu formarea aspartatului şi α-cetoglutaratului, aspartatul fiind cea de a 2a formă sub care azotul intră în ciclul ureogenetic. Ionul amoniu este o alta forma sub care azotul intra în ciclul ureogenetic. Ciclul ureogenetic a fost descris în 1932 de către Hans Krebs şi studentul său, Kurt Henseleit, bazat pe observaţiile de laborator. De aceea ciclul ureogenetic a fost iniţial denumit ciclul Krebs-Henseleit. Ulterior, Krebs a folosit acest concept de cale metabolică ciclică, pentru a explica un alt proces ce îi poartă numele, ciclul Krebs sau ciclul acizilor tricarboxilici.

Etapele ciclului ureogenetic

1. În prima etapă a ciclului ureogenetic, amoniacul reactionează cu CO_2 formând carbamilfosfatul, reacţie catalizată de carbamilfosfat sintetaza I. Reacţia are loc în mitocondria hepatocitelor, cu

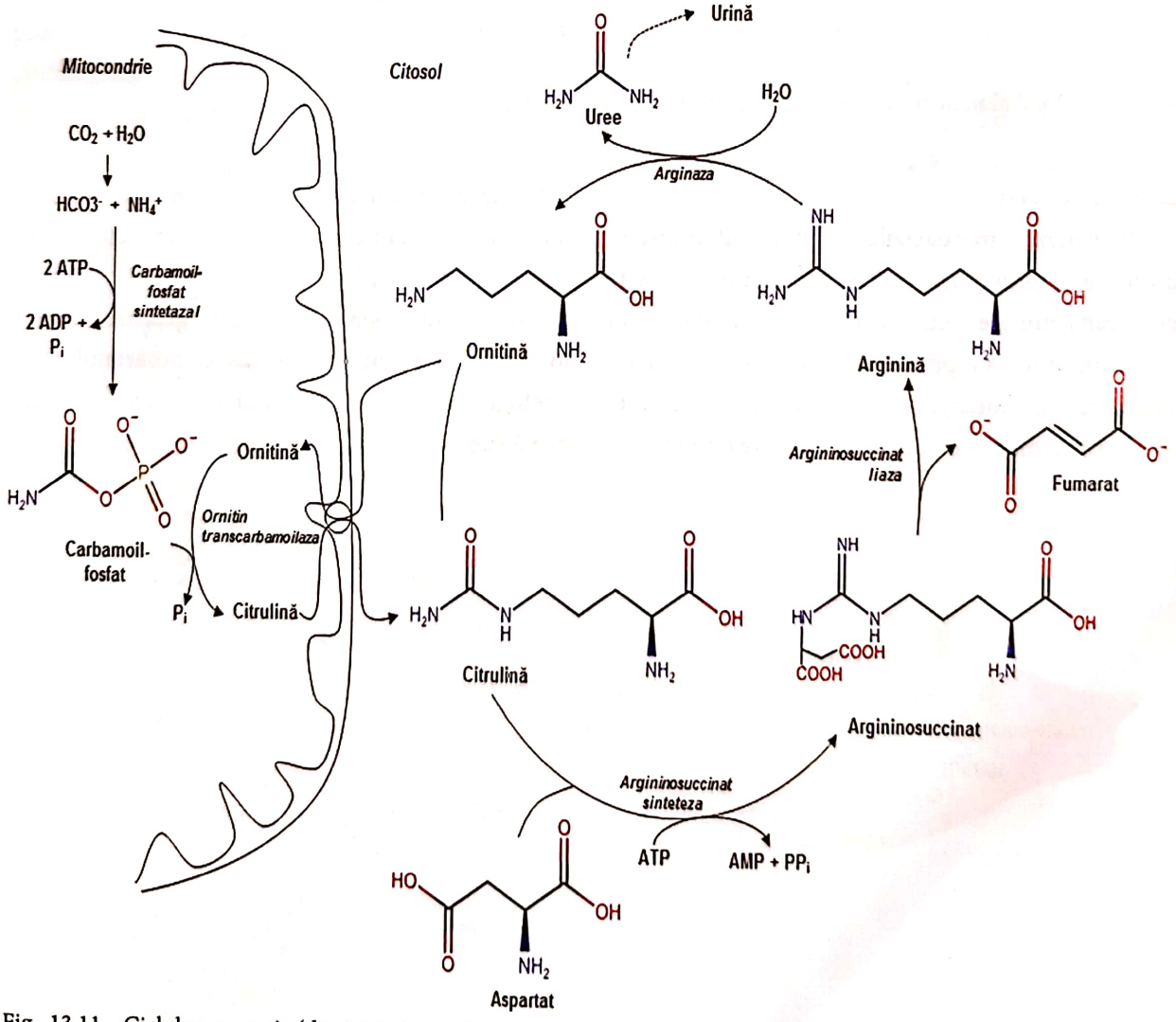


Fig. 13.11. Ciclul urogenetic (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

consum de ATP.

Carbamilfosfatsintaza I există doar în mitocondrie, carbamilfosfatsintaza II este localizată în citosol şi formează carbamilfosfatul necesar sintezei bazelor pirimidinice, preluând gruparea amino de la glutamină.

2. Carbamilfosfatul reacţionează cu ornitina formând citrulina, reacţie ce are loc în mitocondrie şi este catalizată de ornitintranscarbamilază. Ornitina este un aminoacid care nu poate fi încorporat în sinteza proteinelor deoarece nu există un codon care să codifice acest aminoacid.

3. Citrulina iese din mitocondrie în citosol, unde reacţionează cu acidul aspartic, a doua sursă de atomi de azot în ciclul ureogenetic. Se formează argininosuccinat, printr-o reacţie catalizată de argininosuccinat sintază, reacţie ce decurge cu consum de ATP. Acidul aspartic provine din reacţia de transaminare a acidului oxalilacetic.

4. Argininsuccinatul este clivat de către argininosuccinază în fumarat şi arginină. Fumaratul este convertit la malat şi utilizat în sinteza glucozei pe calea gluconeogenetică sau regenerează oxaloacetatul în ciclul Krebs. Oxaloacetatul este transaminat şi formează acidul aspartic ce introduce azotul în ciclul ureogenetic fiins apoi reciclat la aspartat.

5. Arginina ce conţine azotul provenit din aspartat şi amoniac este clivata de către arginază rezultând uree şi regenerând ornitina. Ureea este produsă din gruparea guanido a argininei (gruparea laterală), portiunea argininei provenită de la ornitina originală, refăce ornitina. Etapele în care citrulina este convertită la arginină, şi cele în care arginina este clivată la uree se desfăşoară în citosolul hepatocitelor. Ornitina trece din citosol în mitocondrie reacţionând cu carbamilfosfatul, închizând astfel ciclul ureogenetic.

Reglarea ciclului ureogenetic

Ficatul are o mare capacitate de a converti amoniacul rezultat în special din degradarea proteinelor, în uree. Se previne astfel, acumularea acestuia în organism. În general ciclul ureei este reglat de că-

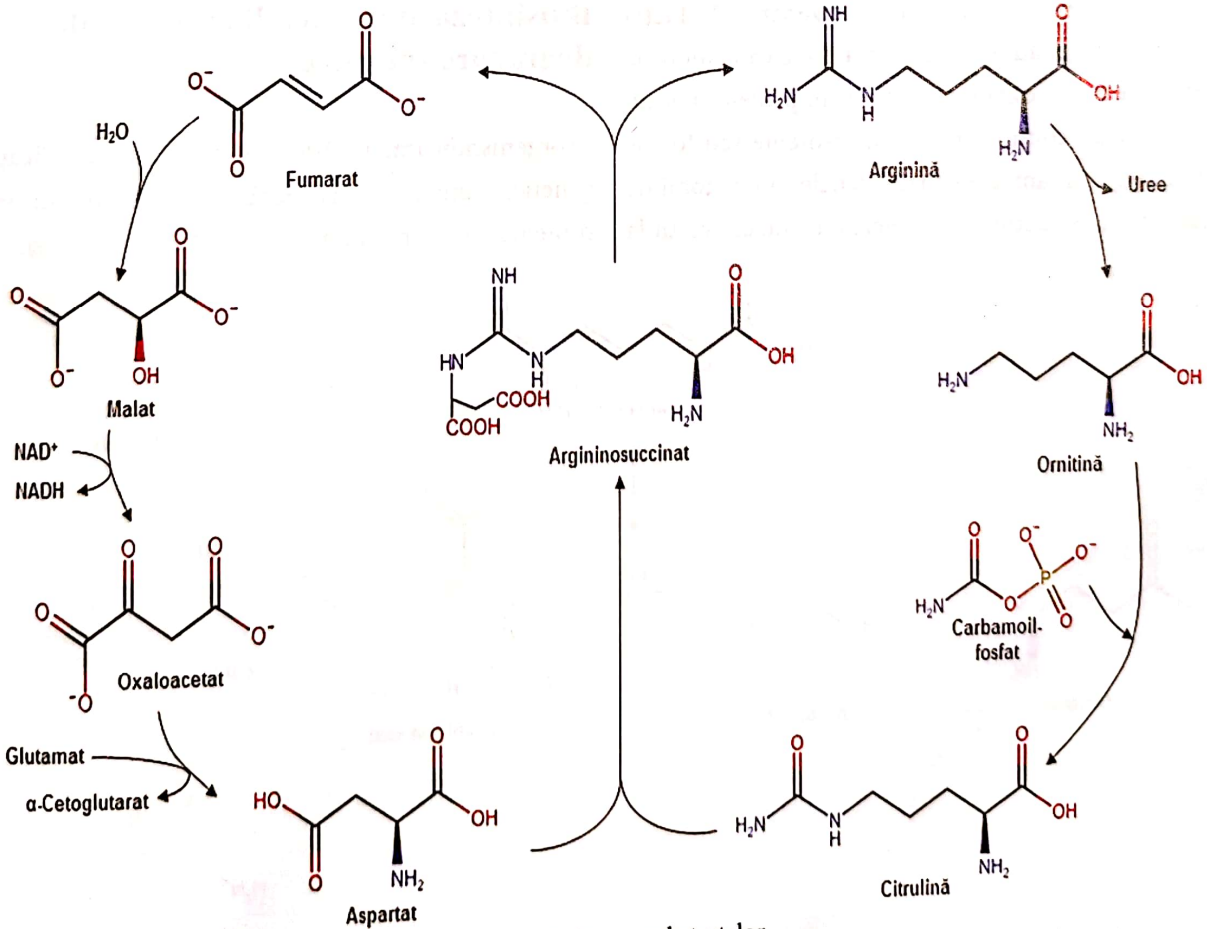


Fig. 13.12. Reglarea ciclului ureogenetic prin disponibilitatea substratelor

Scanned with OKEN Scanner

tre disponibilitatea de substrate. Atunci când în organism există o rată crescută de producţie a amoniacului, ciclul ureogenetic se desfăşoară cu o viteză crescută.

1. Reglarea prin disponibilitatea substratelor, este caracteristică proceselor, precum ciclul ureogenetic, ce elimină compuşii toxici din organism, (Fig. 15.12). Acest mecanism de reglare este asemănător mecanismelor de reglare de tip „feed-forward" (reglarea prin produs anterior) spre deosebire de reglarea prin produs final „feed-back" caracteristică majorităţii proceselor din organism din care rezultă compuşi funcţionali.

Capacitatea dietei bogate în proteine de a mări viteza de funcţionare a ciclului ureogenetic este un exemplu tipic de reglare de tip „feed-forward".

2. Activarea alosterică a carbamilfosfat sintetazei I de către N-acetilglutamat, care este sintetizat în mod special în vederea activării acestei enzime, alte roluri în organism fiind necunoscute (Fig. 13.13).

3. O altă cale de reglare este reprezentată de inducţia/represia enzimelor ciclului ureogenetic. Inducţia enzimelor ciclului ureogenetic are loc ca răspuns la situaţiile ce necesită un metabolism proteic crescut: dietă cu un conţinut ridicat în proteine sau foame prelungită. În ambele situaţii, scheletul de atomi de carbon din structura aminoacizilor este convertit la glucoză, iar azotul este transformat în uree.

În înfometare, ficatul este organul care menţine nivelul glicemiei. Aminoacizii constituenţi ai proteinelor musculare, reprezintă sursa majoră de atomi de carbon din gluconeogeneză, de aceea excreţia urinară de uree este crescută în această stare, (Fig. 13.14). Dacă această stare se prelungeşte, creierul utilizează corpii cetonici în vederea obţinerii energiei necesare, reducand astfel consumul de glucoza. Iniţial, o mică parte din proteinele musculare sunt sa fie degradate în vederea sintezei de glucoză. Scăderea sintezei de glucoză din aminoacizi este însoţită de scăderea sintezei de uree.

Alanina reprezintă aminoacidul glucogenic major, este sintetizat în ţesuturile periferice şi are rol de carrier al grupărilor azotate. Pentru a genera un mol de glucoză sunt necesari doi moli de alanină. Amoniacul rezultat în urma degradării celor doi moli de glucoză este convertit într-un mol de uree, (Fig. 13.15).

Biosinteza aminoacizilor şi căile de degradare specifice

În organismul uman, 20 de aminoacizi sunt codificaţi genetic, numai aceştia putând fi încorporaţi în proteine. Fiecare dintre cei 20 de aminoacizi

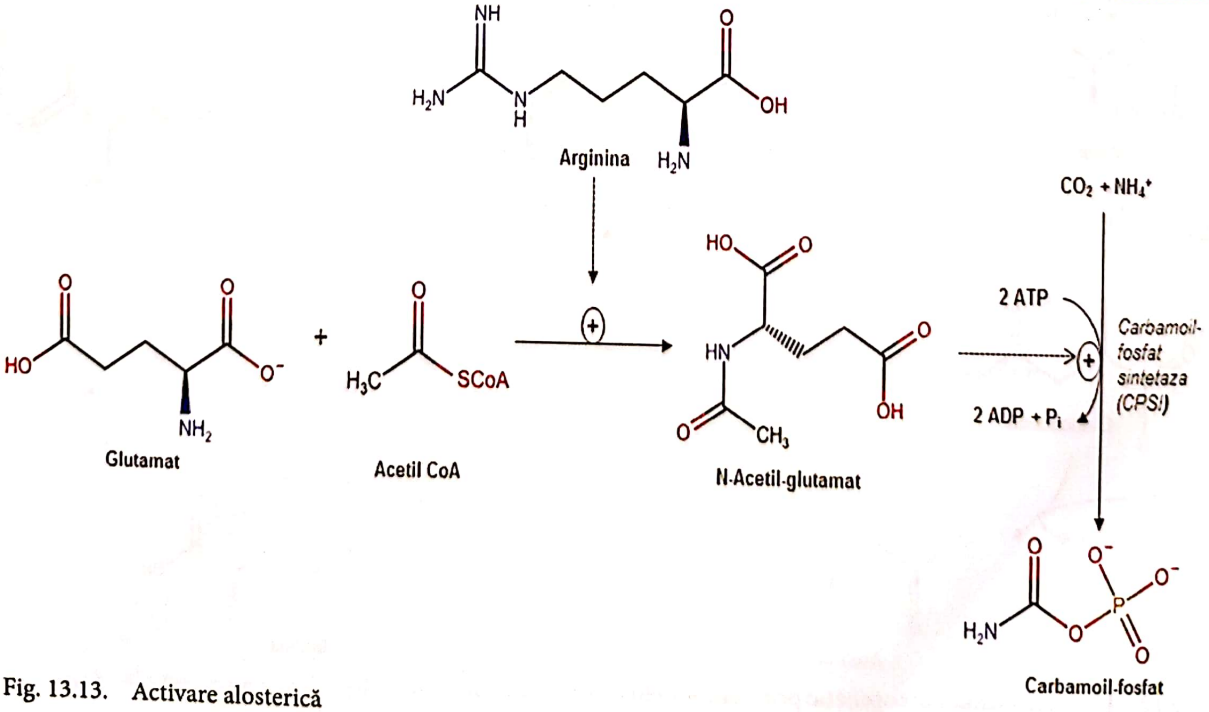
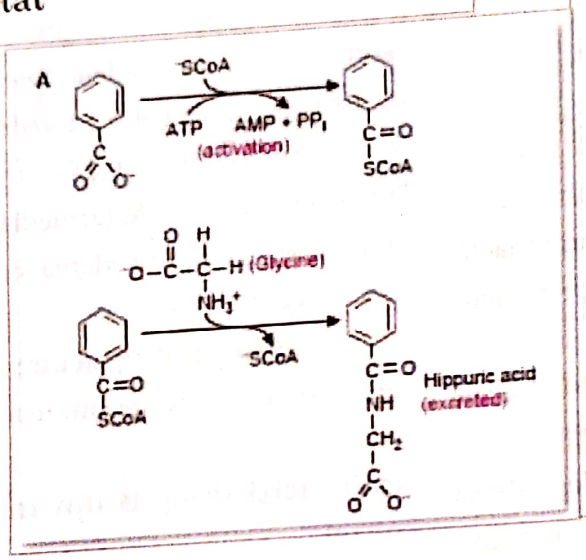
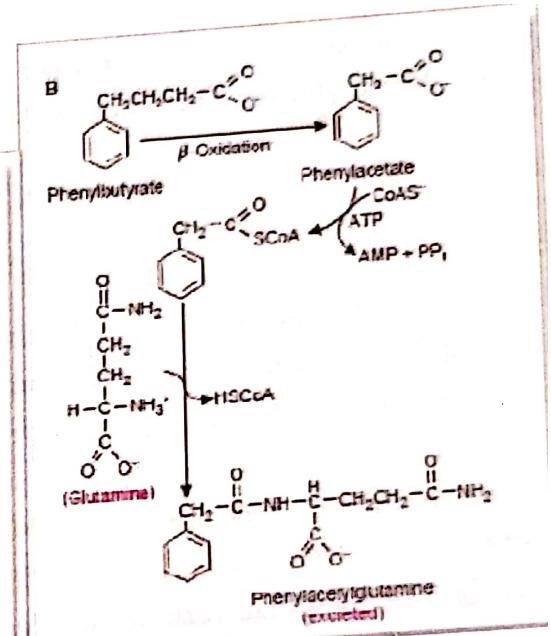


Fig. 13.13. Activare alosterică

Scanned with OKEN Scanner

- Administrare intravenoasa de benzoat de sodiu sau de phenil acetat





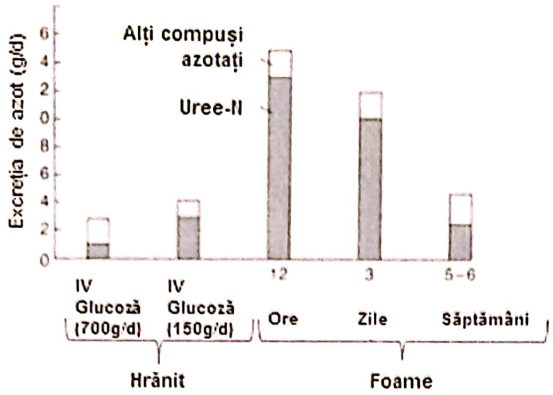


Fig. 13.14. Nivelul glucozei și ureei (modiicată după Marks, 2005)

având structură unică, prezintă și căi diferite de metabolizare. Dintre aceștia doar 11 aminoacizi pot fi sintetizați în organism, ceilalți 9 sunt aminoacizi esențiali ce sunt introduși în organism prin dietă. Dintre aminoacizii „neesențiali", 10 sunt sintetizați în organism având drept precursor glucoza pe calea intermediarilor ciclului Krebs și glicolizei, și o sursă de azot (amoniac rezultat din degradarea compușilor cu azot și cel absorbit din intestin). Al 11-lea aminoacid, tirozina, este sintetizat prin hidroxilarea fenilalaninei (aminoacid esențial). Din cei 10 aminoacizi ce sunt sintetizați din glucoză, patru aminoacizi (serina, glicina, cisteina și alanina) sunt produși pe calea glicolizei. Intermediarii ciclului Krebs ce sunt produși din glucoză, cedează atomii de carbon în vederea sintezei celorlalți șase aminoacizi (Fig. 13.16).

Catabolismul aminoacizilor depinde de starea fiziologică a organismului și a țesuturilor în care acest proces se desfășoară. Un exemplu îl constituie ficatul, care în perioadele interprandiale folosește scheletul aminoacizilor în vederea sintezei de glucoză, corpi cetonici și CO_2. Imediat postprandial, ficatul poate converti intermediari din metabolismului aminoacizilor, în vederea sintezei de glicogen și triacilgliceroli.

Ficatul este singurul organ care posedă toate căile de sinteză și degradare ale aminoacizilor.

Aminoacizi derivați din intermediari ai glicolizei

Patru aminoacizi sunt sintetizați din intermediari ai

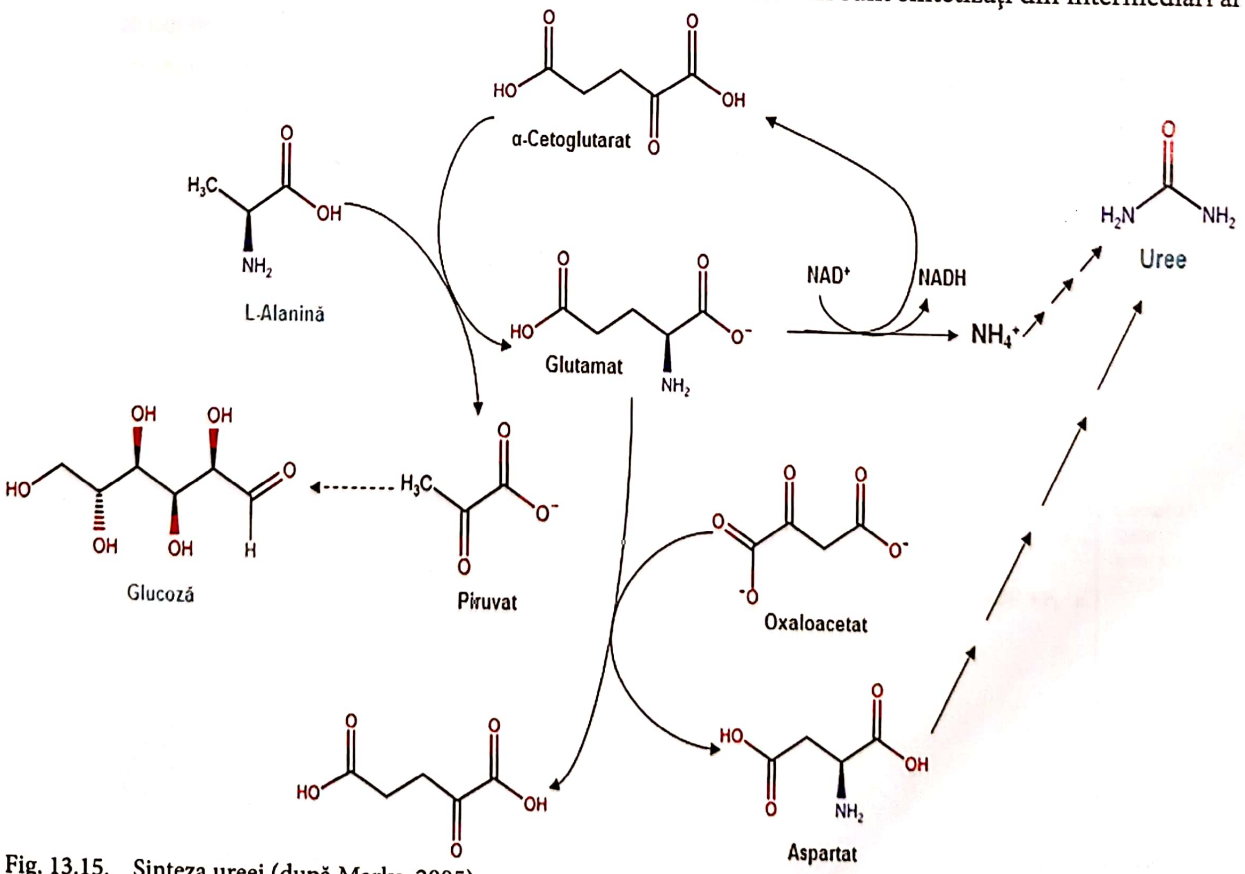


Fig. 13.15. Sinteza ureei (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

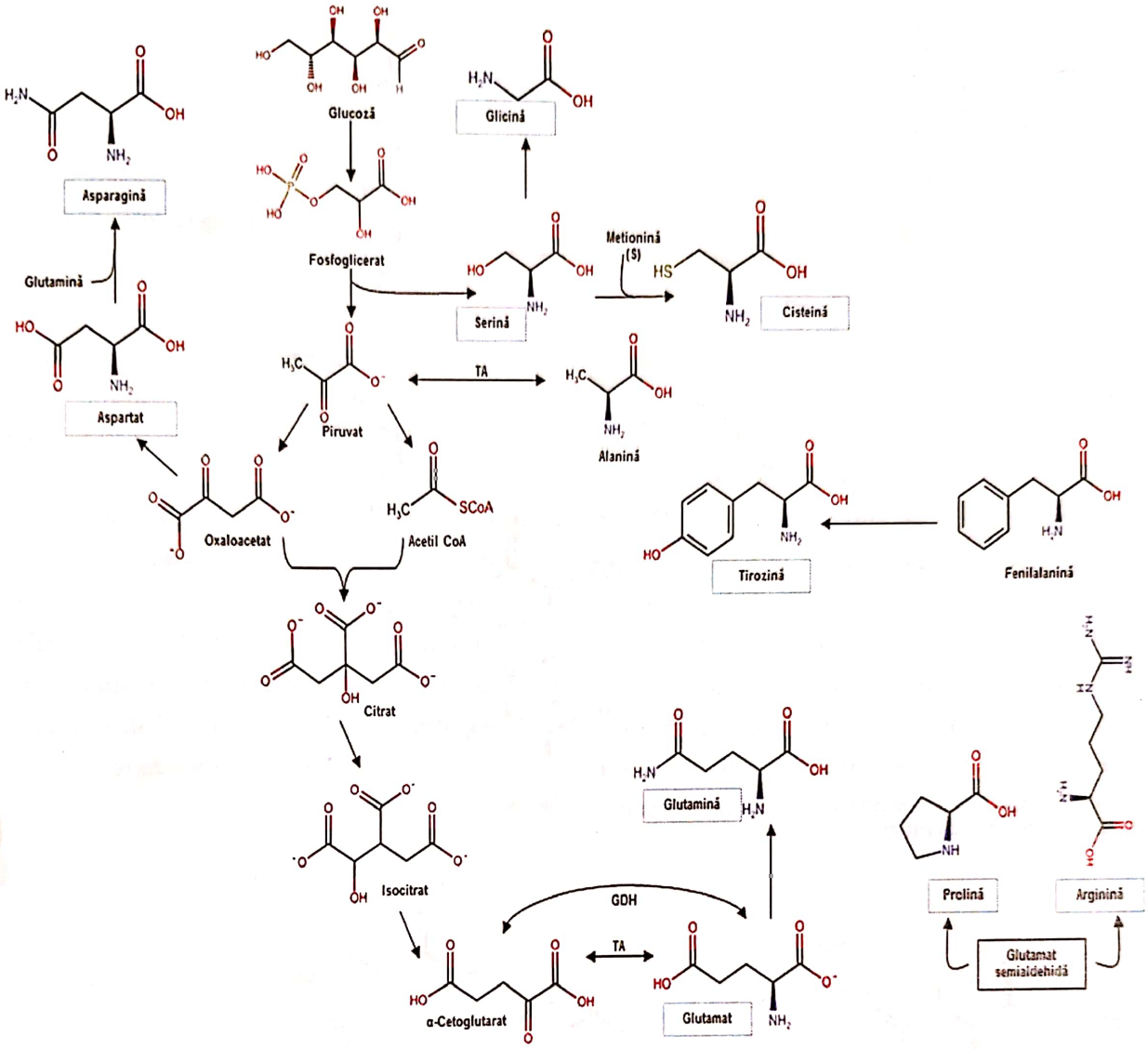


Fig. 13.16. Sinteza aminoacizilor neesenţiali (după Marks, 2005)

glicolizei:

1. serina ce produce glicină şi cisteină este sintetizată din 3-fosfoglicerat;

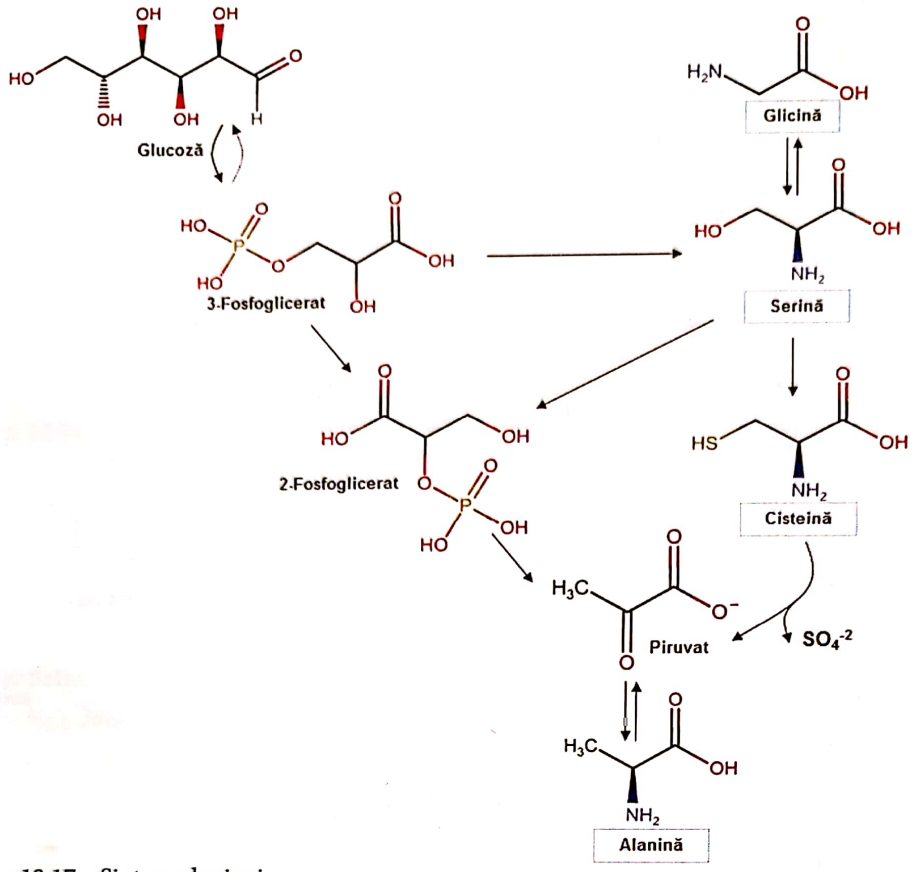
2. alanina este formată prin transaminarea piruvatului, produs al glicolizei. (Fig. 13.17)

Catabolismul acestor aminoacizi constă în transformarea lor la piruvat sau intermediari ai căii glicolitice/gluconeogenetice, sau pot fi degradaţi până la CO_2.

Serina are drept precursor intermediarul glicolizei, 3-fosfoglicerat. Într-o primă etapă acesta este oxidat la 3–fosfohidroxipiruvat, ce este apoi supus unei reacţii de transaminare formând fosfoserina, ce este transformată apoi în serină sub acţiunea fosfoserinfosfatazei (Fig. 13.18).

Calea majoră de degradare a serinei este reprezentată de transaminarea acesteia la hidroxipiruvat, acesta este redus şi apoi fosforilat la 2-fosfoglicerat, intermediar al glicolizei. 2-fosfogliceratul este transformat în fosfoenolpiruvat şi apoi în piruvat. Mamiferele posedă o altă cale de degradare a serinei, sub acţiunea unei serindehidrataze, ce formează amoniac şi piruvat, cale ce pare să fie minoră pentru organismul uman. Mecanismele de reglare ale procesului menţin nivelul serinei în organism. Există două puncte cheie în reglare, la nivelul 3-fosfogliceratdehidrogenazei si la nivelul fosfoserinfosfatazei. Nivelul serinei este menţinut

Scanned with OKEN Scanner



Fig, 13.17. Sinteza alaninei

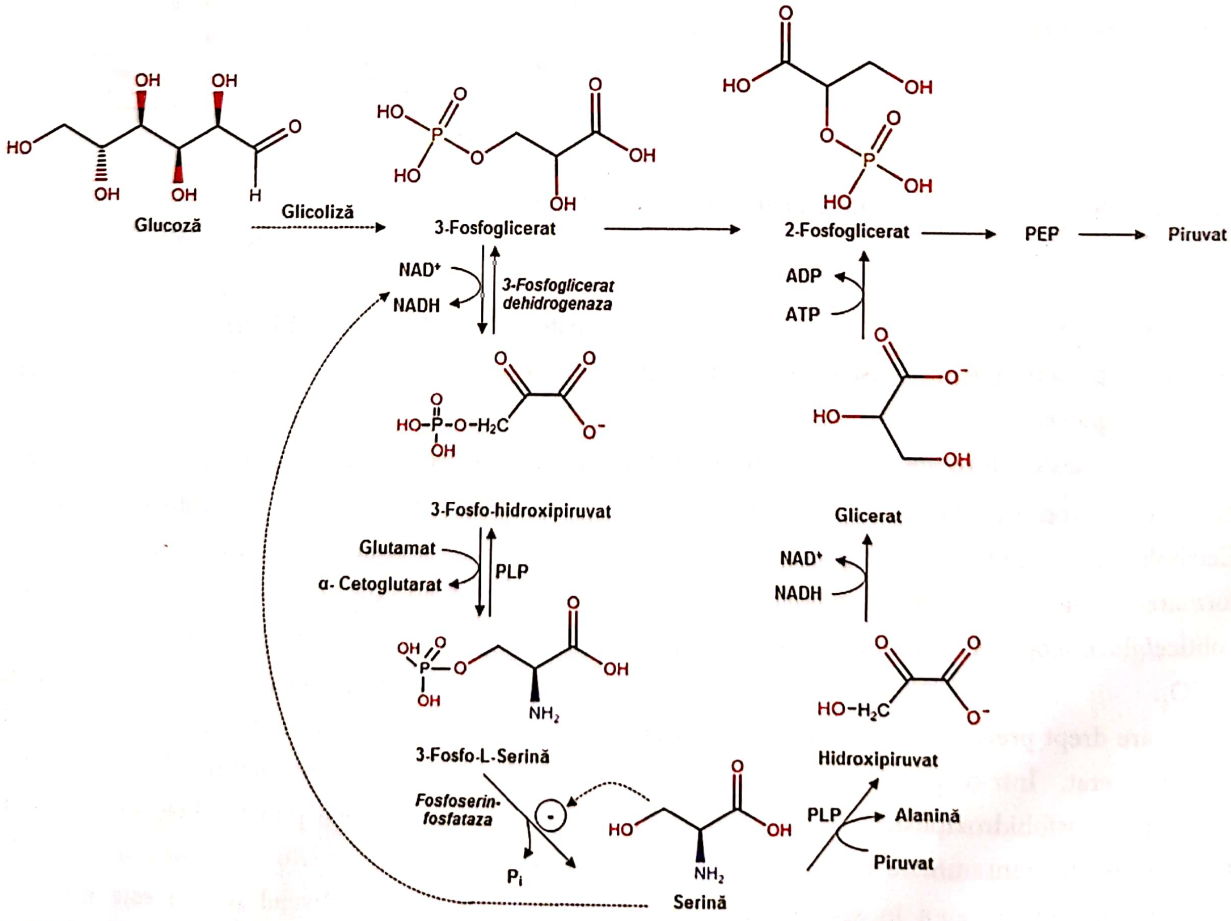


Fig. 13.18. Sinteza serinei (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

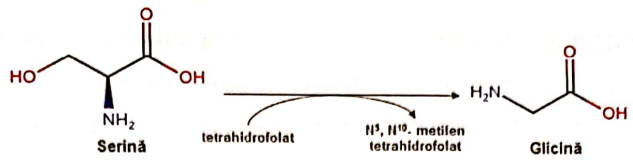


Fig. 13.19. Sinteza glicinei

relativ constant deoarece serina determină represia (⊠) 3- fosfogliceratdehidrogenazei şi inhibiţia (⊠) fosfoserinfosfataza.

Glicina este metabolizată în organism pe diferite căi. Este un aminoacid neesenţial produs din serină printr-o reacţie reversibilă ce necesită tetrahidrofolat. (Fig. 13.19). Tetrahidrofolatul este o coenzimă care transferă un grup ce conţine un atom de carbon şi provine de la acidul folic. Glicina poate fi formată şi prin degradarea treoninei.

Glicina poate fi degradată pe două căi majore în organismul uman:

1. Transformarea glicinei în serină sun acţiunea serinhidroximetiltransferazei, serina este transformată apoi în piruvat;
2. Glicina este convertită la glioxilat sub acţiunea unei oxidaze ce este oxidat mai departe fie la oxaloacetat fie la CO_2 şi H2O.

Glicina este un aminoacid implicat intr-o serie de căi anabolice: sinteza hemului, a glutationului, creatinei, bazelor purinice şi sărurilor biliare. Glicina este un aminoacid implicat intr-o serie de căi anabolice: sinteza hemului, a glutationului, creatinei, bazelor

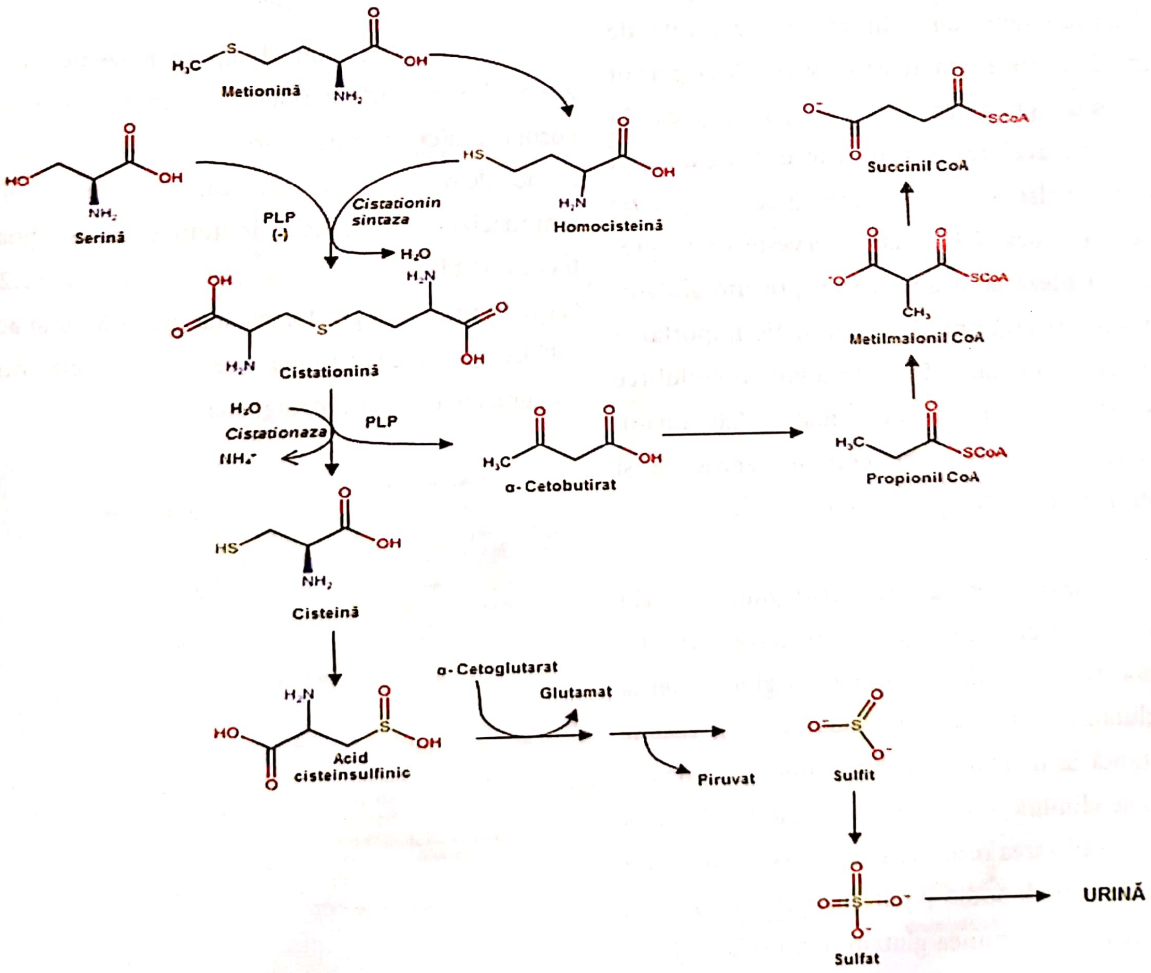


Fig. 13.23. Catabolismul serinei şi melatoninei (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

purinice şi sărurilor biliare.

Cisteina este sintetizată având drept precursori serina (cu scheletul de atomi de carbon şi azot), sulful provine din metionină (aminoacid esenţial). Deoarece sinteza cisteinei are drept precursor metionina, aminoacid esential, acesta devine şi el aminoacid esenţial, dacă aportul prin dietă este scăzut. Prin degradarea cisteinei, azotul se elimină prin urină sub formă de uree, iar sulful se elimină ca sulfat (Fig. 13.20).

Alanina este sintetizată din piruvat prin transaminare, reacţie catalizată de către alaninaminotransfaraza (ALAT) şi poate fi convertită înapoi la piruvat prin aceeaşi reacţie reversibilă.

Aminoacizii derivaţi din intermediari ai ciclului Krebs

Se încadrează în două grupuri:

1. Aminoacizi derivaţi din α-cetoglutarat

Glutamatul se sintetizează din α-cetoglutarat prin transaminare sau prin reacţia catalizată de glutamatdehidrogenază, reacţii reversibile ce permit catabolismul glutamatului prin parcurgerea în sens invers a aceloraşi căi. În ficat α-cetoglutaratul formează malat care pe calea gluconeogenezei formează glucoză. Glutamatul serveşte drept precursor în sinteza altor aminoacizi precum glutamina, prolina şi arginina. O altă funcţie importantă este aceea de precursor în sinteza glutationului (ce protejează celulele de stresul oxidativ). Glutamatul funcţionează la nivelul sintemului nervos ca şi neurotransmiţător de tip excitator

Glutamina este sintetizată din acid glutamic prin reacţia catalizată de glutaminsintază. Aceasta diferă de reacţia de dezaminare a glutaminei la acid glutamic (catalizată de glutaminază), reacţie importantă la nivelul rinichiului, unde amoniacul produs se elimină în urină scăzând astfel aciditatea urinară şi utilizarea rezervei alcaline a organismului (în special ionii de sodiu şi potasiu). Glutamina prin dezaminare sub acţiunea glutaminazei reface glutamatul.

Arginina este sintetizată din glutamat, acesta prin transaminare formează ornitina, intermediar al ciclului ureogenetic ce prin parcurgerea etapelor acestui ciclu, formează arginina care este scindată ulterior în ornitină şi uree. Ornitina în exces este transformată în glutamat. Arginina formează oxid nitric (NO) şi citrulina, prin reacţia catalizată de NO sintază. NO este un mesager cu diverse funcţi în organism: vasodilatatie, neurotransmiţător, participă la îndepărtarea celulelor tumorale şi a paraziţilor. NO pătrunde la nivelul celulelor musculare netede, stimulează producţia de cGMP prin stimularea guanilat ciclazei, ceea ce are drept rezultat relaxare musculară şi vasodilataţie. (Fig. 13.21). Prin degradarea aminoacizilor scheletul lor de atomi de carbon este convertit în: CO_2; şi compuşi de la care se obţine glucoza în ficat: piruvat şi intermediari ai ciclului Krebs (α-cetoglutarat, succinil CoA, fumarat şi oxaloacetat).

Aminoacizii sunt consideraţi glucogenici dacă atomii lor de carbon pot fi convertiţi la glucoză, corpi cetonici sau precursori ai acestora: acetoacetat şi acetilCoA. Aminoacizii cetogenici sunt acei aminoacizi al căror schelet de atomi de carbon poate fi convertit la acetilCoA sau acetoacetat. (Fig. 13.22) Câţiva aminoacizi pot forma atât glucoză cât şi acetilCoA sau corpi cetonici, aceşti aminoacizi fiind atât glucogenici cât şi cetogenici.

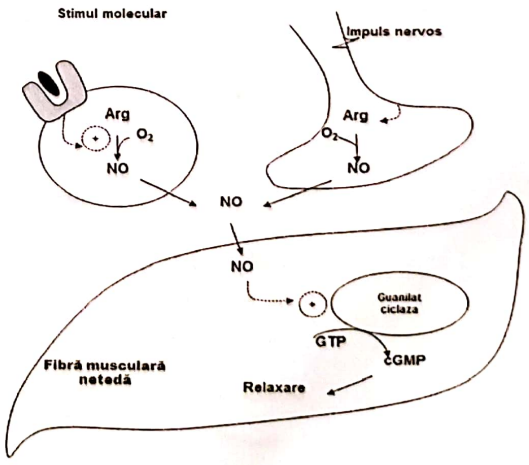


Fig. 13.21. Rolul NO (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

În perioade de abundenţă calorică, piruvatdehidrogenaza converteşte piruvatul în acetilCoA şi formarea de depozite de corpi cetonici sau grăsimi. În perioadele interprandiale însă, aminoacizii ce sunt degradaţi la piruvat sunt consideraţi a fi glucogenici deoarece ficatul converteşte piruvatul la glucoză reactia de conversie la acetilCoA (deci nici corpi cetonici) este inactivă.

Aminoacizii care sunt sintetizaţi din intermediari ai glicolizei produc piruvat atunci când sunt degradaţi.

Aminoacizii sintetizaţi din intermediari ai ciclului Krebs refac prin degradare aceşti intermediari.

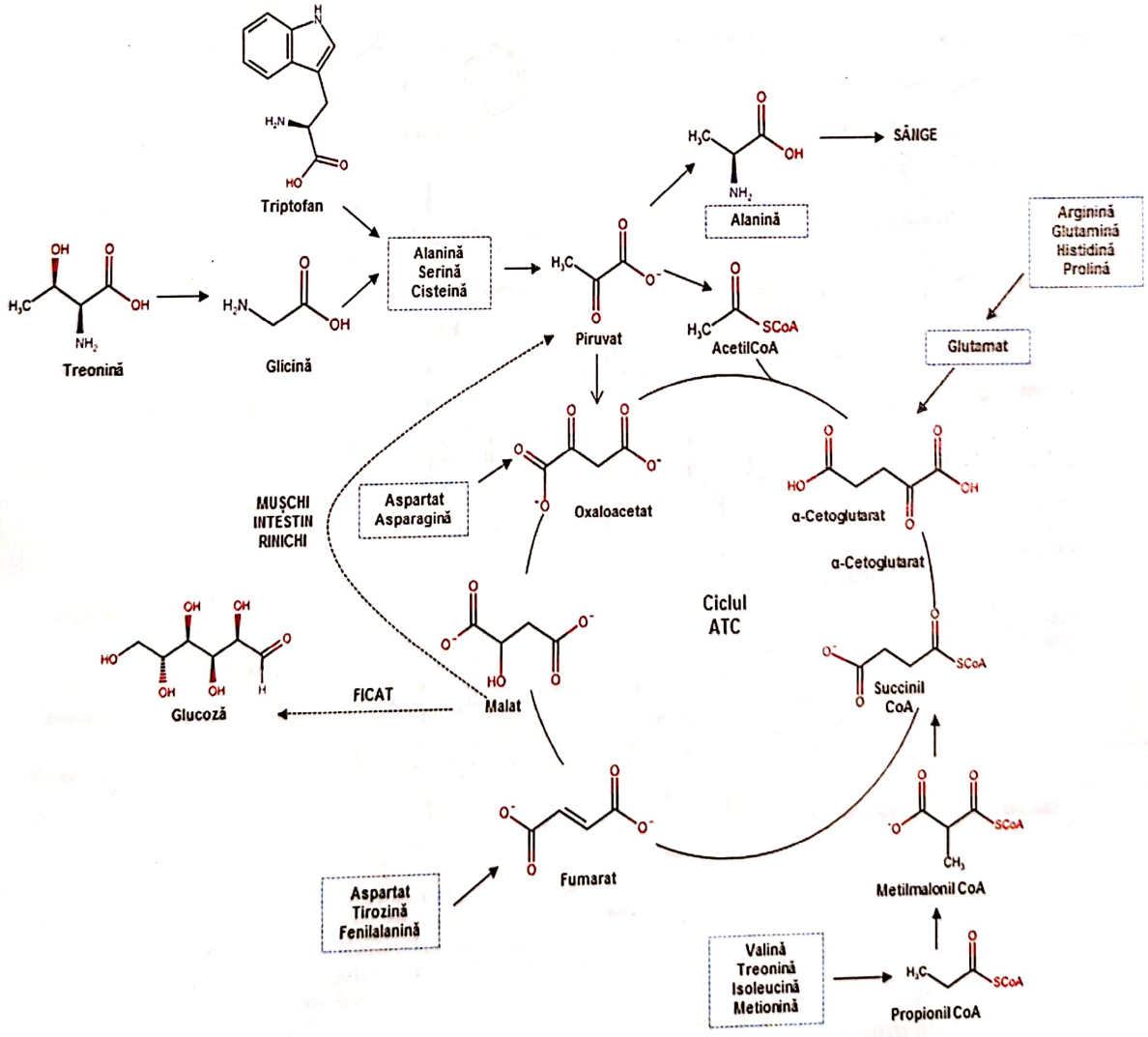
Histidina nu poate fi sintetizată în organism. Prin degradarea ei, cinci din atomii de carbon sunt transformaţi în glutamat şi apoi în α-cetoglutarat (intermediar al ciclului Krebs).

Câţiva aminoacizi esenţiali conţin atomi de carbon ce sunt convertiţi la piruvat sau intermediari ai ciclului Krebs. Triptofanul produce alanina ce este apoi transformată în piruvat. Metionina, treonina, valina şi izoleucina formează succinilCoA, iar fenilalanina formează acid fumaric. Deoarece piruvatul şi intermediarii ciclului Krebs formează glucoză din piruvat, aceşti aminoacizi sunt glucogenici.

Câţiva dintre aminoacizii esenţiali glucoformatori, conţin şi atomi de carbon ce produc corpi cetonici. (Fig. 13.23). Triptofanul, izoleucina şi treonina produc acetilCoA, iar fenilalanina produce acetoacetat. Aceşti aminoacizi sunt atât glucogenici cât şi cetogenici, (Fig. 13.24).

Doi dintre aminoacizii esenţiali, lizina şi leucina sunt strict cetogenici. Ei nu produc glucoză.

Rolul vitaminei B12, tetrahidrofolatului şi S-Ade-



Fig, 13.22. Aminoacizi cetogenici (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

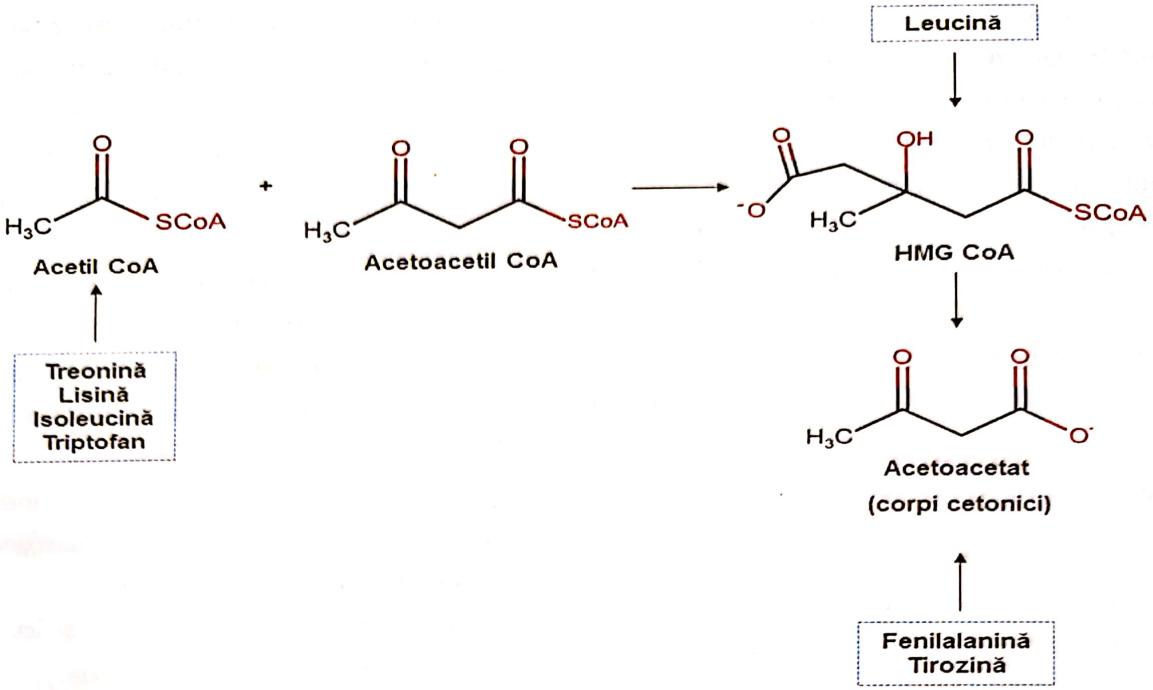


Fig. 13.23. Catabolismul aminoacizilor (după Marks, 2005)

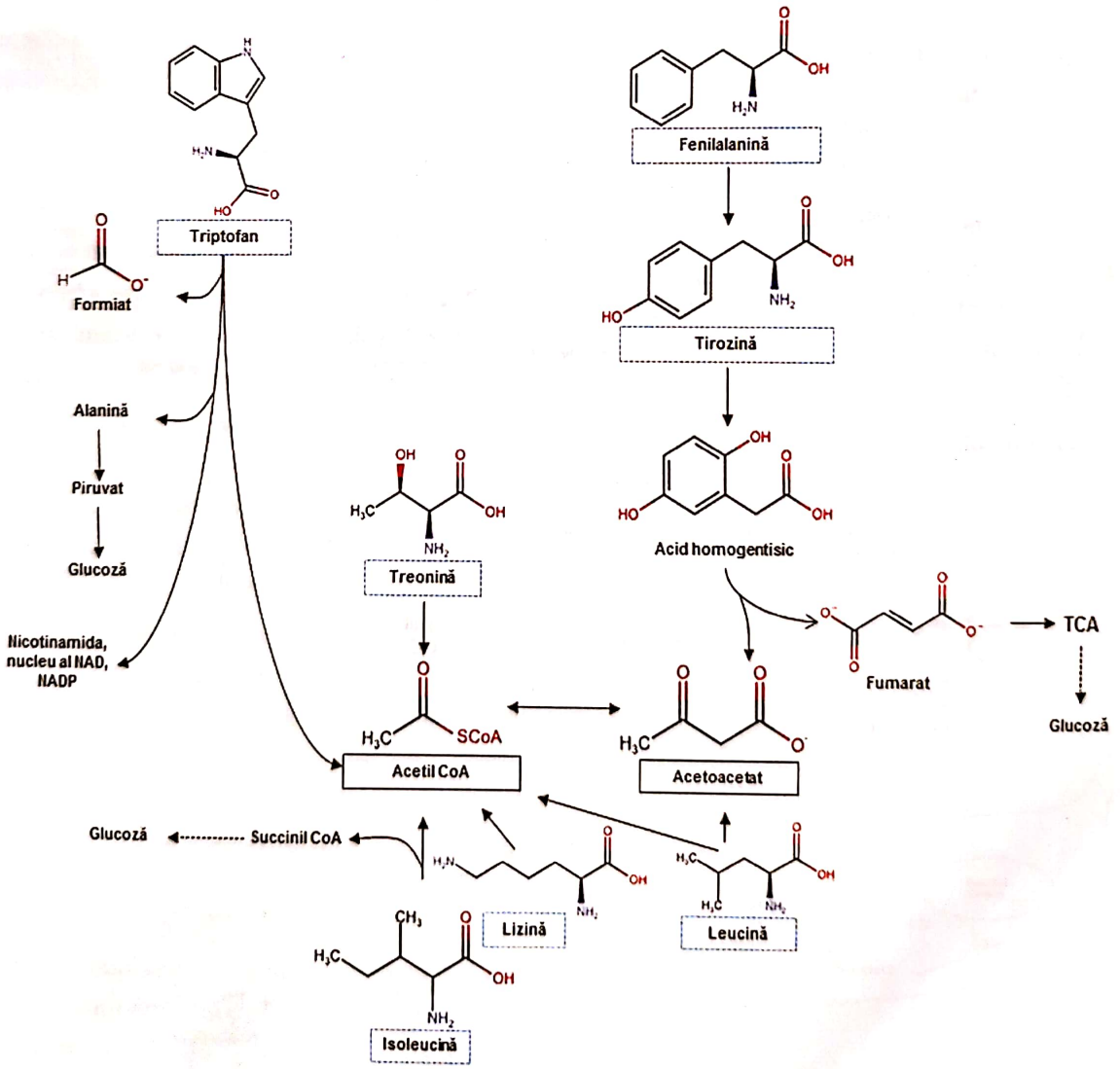


Fig. 13.24. Catabolismul aminoacizilor glucogenici și cetogenici (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

nozilmetioninei în sinteza şi degradarea aminoacizilor, constă în transferul unei unităţi ce conţine un atom de carbon de la un compus la altul.

Acest atom de carbon se poate prezenta sub diferite nivele de oxidare: CO_2 este transferat de către biotină, celelalte unităţi de atomi de carbon, cu nivel mai mic de oxidare decât cel al CO_2 sunt transferate prin reacţii ce implică tetrahidrofolat (FH_4), vitamina B12 şi S-adenozilmetionina (SAM), (Fig. 5.25). Tetrahidrofolatul (derivat din acidul folic) obţine gruparea cu un atom de carbon de la serină, glicină, histidină, formaldehidă. Aceste grupuri cu un atom de carbon ataşate la tetrahidrofolat, sunt cunoscute sub denumirea de rezervor de unităţi de carbon.

Unităţile de un atom de carbon transportate de tetrahidrofolat sunt transferate:

- pe deoxiuridin monofosfat (dUMP) pentru a forma deoxitimidin monofosfat (dTMP);
- pe glicină pentru a forma serina;
- precursorilor bazelor purinice pentru a forma atomii de carbon C2 şi C8 din structura bazelor purinice;
- vitaminei B12.

Vitamina B12 este implicată în două reacţii:

- participă la rearanjamentul grupării metil din structura metilmalonilCoA pentru a forma succinilCoA;
- transferă o grupare metil, de la tetrahidrofolat la homocisteină;
- SAM, sintetizată din metionină şi ATP, transferul grupării metil unor precursori din sinteza creatinei, fosfatidilcolinei, epinefrinei, melatoninei şi nucleotidelor metilate.

Compuşi cu funcţii speciale derivaţi din aminoacizi

Creatina este sintetizată din glicină şi arginină, calea de sinteză este prezentată pe larg în legătură cu trav-

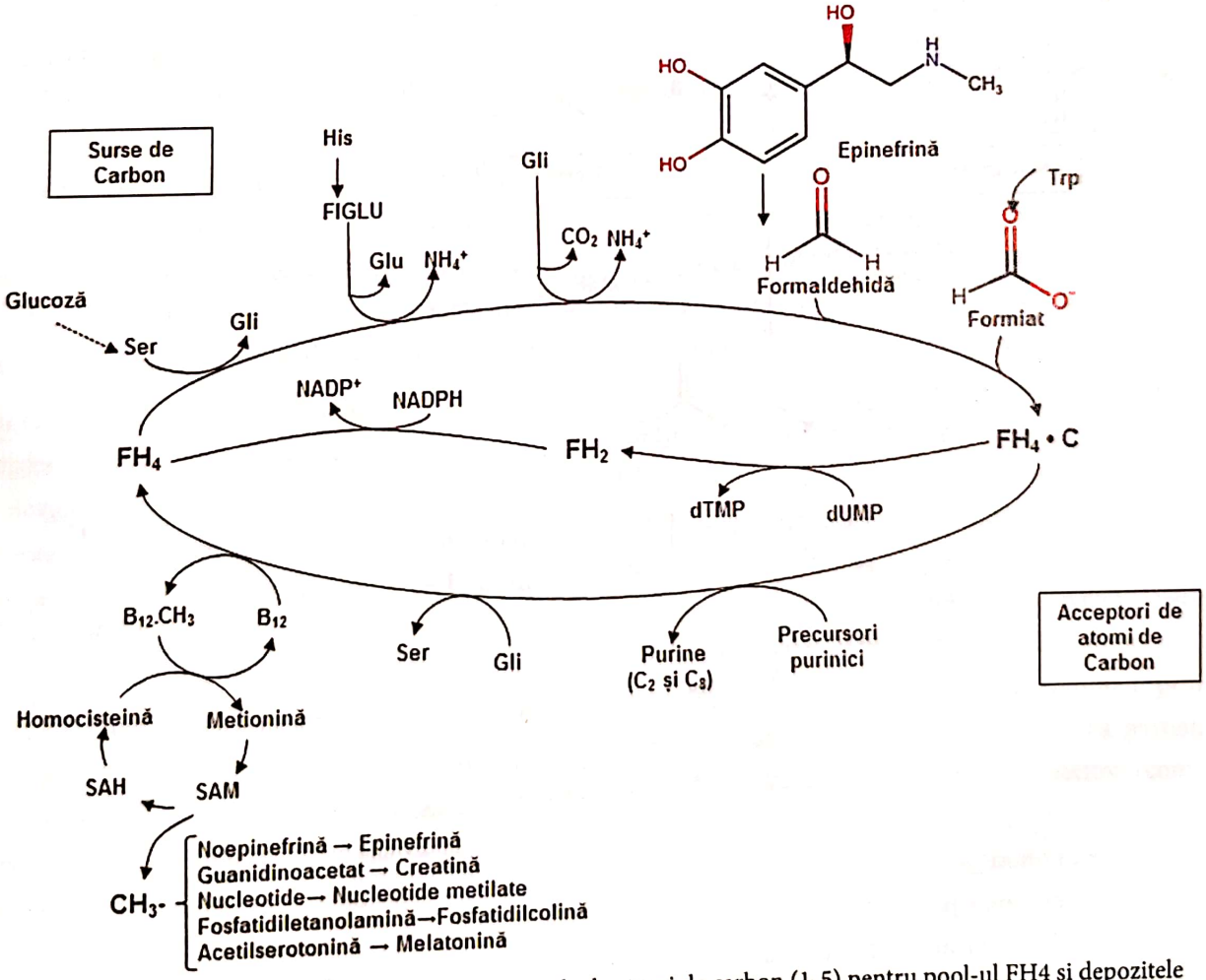


Fig. 13.25. Interrelaţia dintre FH4, B12 şi SAM. - sursele de atomi de carbon (1-5) pentru pool-ul FH4 şi depozitele de carbon (A-D). Câteva reacţii specifice ce necesită SAM (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

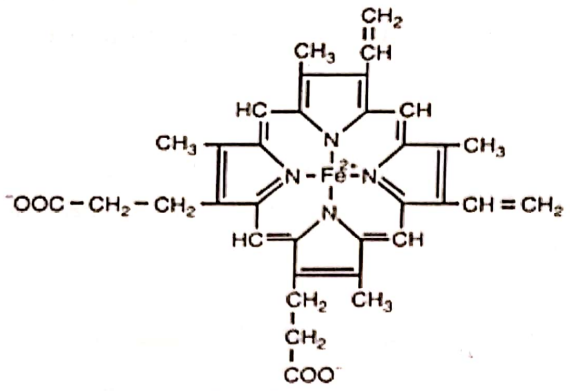


Fig. 13.26. Structura hemului

aliul muscular.

Glicina formează conjugaţi cu o serie de compuşi precum acizii biliari, formând acidul glicocolic, proces descris la sinteza sărurilor biliare. De asemenea, multe medicamente liposolubile reacţionează cu glicina pentru a forma compuşi solubili în apă.

Biosinteza glutationului (γ glutamil cisteinil glicină) are drept precursori cei trei aminoacizi: glutamatul, cisteina şi glicina. La nivelul ficatului şi rinichiului aceste reacţii alcătuiesc un ciclu numit „γ glutamil" care cuprinde biosinteza glucagonului dar şi degradarea sa simultană şi transferul aminoacizilor prin membrana celulară. În acest ciclu un rol important îi revine γ glutamil-transpeptidazei (γ GT) enzimă localizată în membrana celulară.

Hemoproteinele sunt alcătuite dintr-o grupare hem şi proteine. Hemul este alcătuit dintr-un inel porfirinic în centrul căruia se găseşte un atom de fier. Inelul porfirinic este alcătuit din patru nuclee pirolice legate între ele prin punţi metinice. Fiecare nucleu pirolic prezintă doi substituienţi, aceştia pot fi: metil (M), vinil (V), propil (P). În structura hemului de la atomul de carbon 1 la 8 aceşti substitienţi sunt: MVMVMPPM. (Fig. 13.26)

Hemul legat de proteine întră în structura hemoglobinei, mioglobinei şi citocromilor, inclusiv în

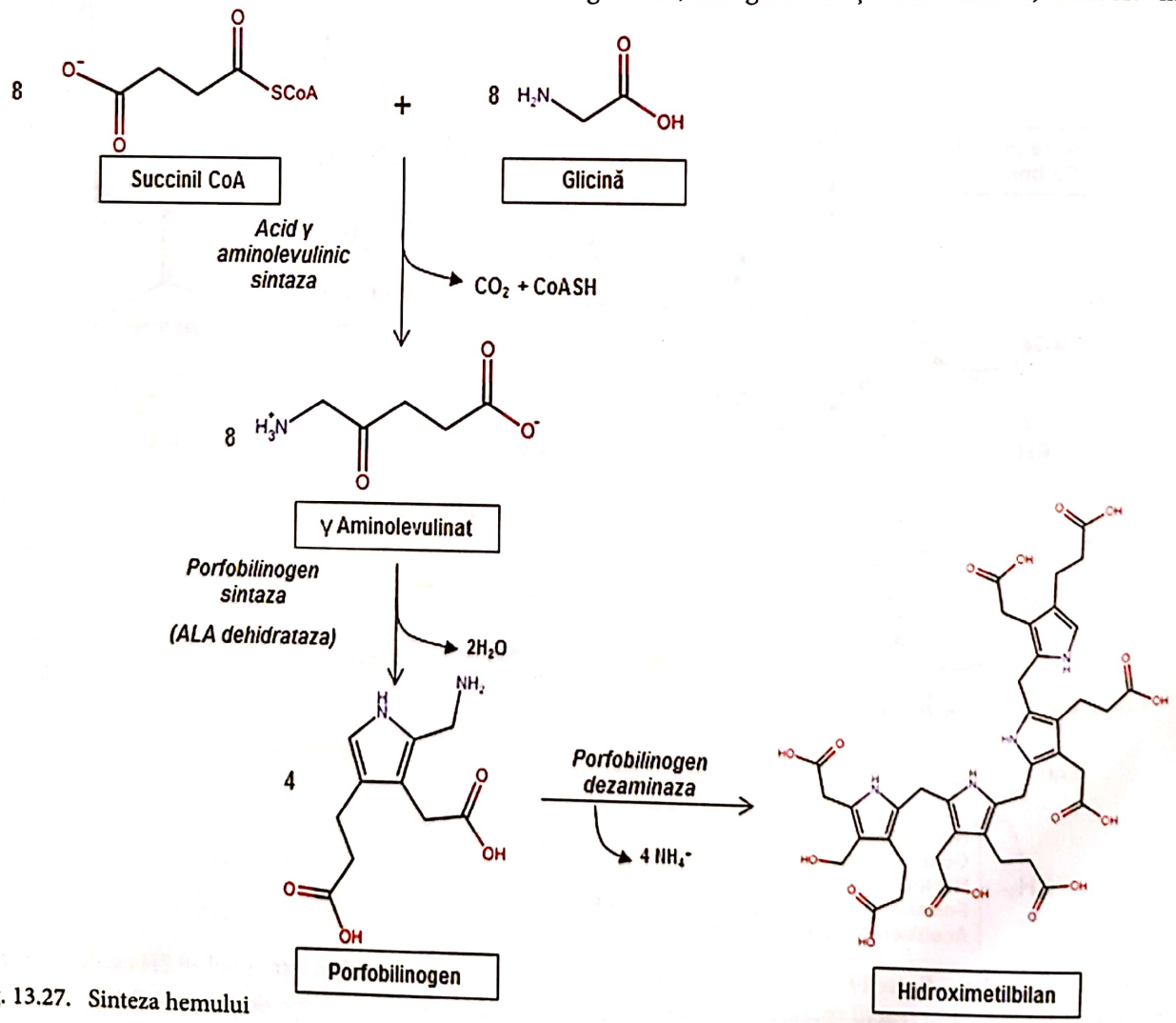


Fig. 13.27. Sinteza hemului

Scanned with OKEN Scanner

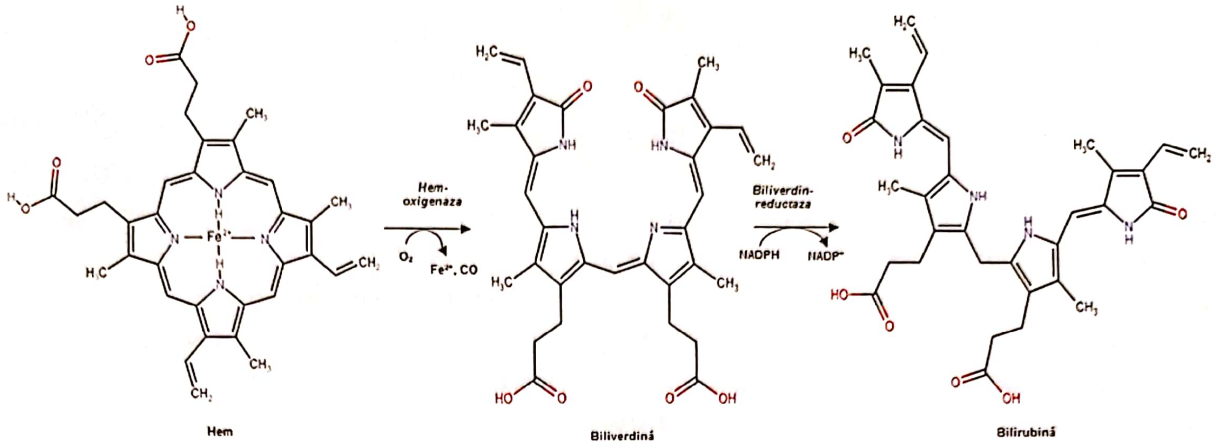


Fig. 13.28. Degradarea hemului

structura citocromului P450, conferă culoarea roşie eritrocitelor şi muşchilor (conţin un mare număr de mitocondrii). Sinteza hem-ului are drept precursori glicina şi succinilCoA, ce se condensează într-o primă etapă pentru a forma acidul δ-aminolevulinic, (Fig. 13.27). Enzima ce catalizează această reacţie este δ-aminolevulinat sintetaza, ce necesită piridoxalfosfat. Pentru a sintetiza o moleculă de hem sunt necesare opt molecule de hem şi de glicină. Pe parcursul sintezei sunt generati o serie de derivaţi porfirinici, formându-se în final protoporfirina IX la care prin adăugarea ionului de fier formează hem-ul.

Sinteza hemului este reglată de către acesta prin represia primei enzime a căii de sinteză, δ-aminolevulinic acid sintaza (☒) sau prin inhibitia activităţii acestei enzime (☒). Deficienţa unei enzime din această cale constă într-o serie de boli numite porfirii.

Prin degradare hemul formează bilirubină, ce este conjugată cu acidul glucuronic şi excretată prin bilă. (Fig. 13.28). Sursa majoră de bilirubină este degradarea hemoglobinei, degradarea citocromilor şi mioglobinei pot produce bilirubină.

Timpul de viaţă al eritrocitelor este de 120 de zile, după această perioadă hematiile senescente sunt fagocitate de către celulele sistemului reticuloendotelial, globina este scindată în aminoacizii componenţi iar fierul se întoarce în depozitele de fier ale organismului. Hemul este oxidat şi degradat la monoxid de carbon şi biliverdină. Biliverdina este redusă la bilirubină si transportată la ficat sub forma complexelor cu albumina. La acest nivel, bilirubina este conjugată cu UDP-glucuronat şi formează bilirubin monoglucuronidul, un compus cu solubilitate mai mare în apă. Bilirubin monoglucuronidul este convertit la bilirubin diglucuronid, formă sub care este excretat prin bilă si ajunge prin canalul cystic in duoden unde se continua metabolismul.

Ultimele etape ale degradării hemului au loc în intestin, flora bacteriană transformă bilirubin diglucuronidul la bilirubină şi urobilinogen (incolor). O mică parte din urobilinogen este redus în continuare la stercobilinogen (incolor). Stercobilinogenul şi în mică măsură urobilinogenul sunt eliminaţi prin fecale. În contact cu aerul ei se oxidează parţial, trecând în urobilină şi respectiv stercobilină (compuşi coloraţi).

Cea mai mare parte a urobilinogenului este resorbită în intestin, ajunge prin circulaţia portală la ficat unde este reexcretat prin bilă. O mică parte din urobilinogenul reabsorbit se elimină pe cale renală. O reab-

Scanned with OKEN Scanner

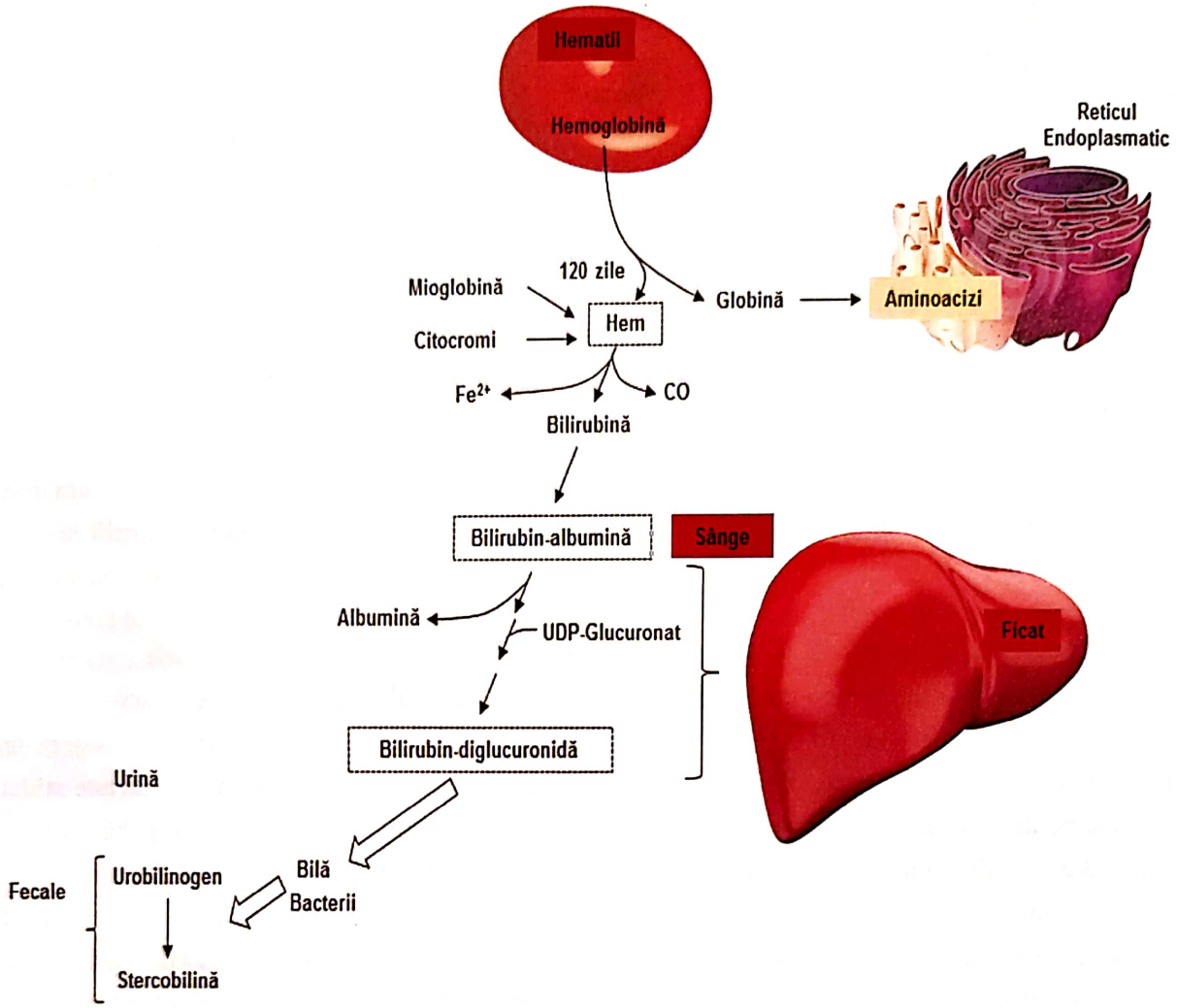


Fig. 13.29. Degradarea hemoglobinei (modificată după Marks, 2005)

sorbție crescută și în consecință o eliminare renală crescută, cuplate cu instabilitatea urobilinogenului în urina acidă, sunt indicatori ai metabolismului bilirubinei. Absența urobilinogenului în fecale și urină indică o obstrucție completă a canalului biliar (Fig. 13.29).

Sursa de fier din organism o reprezintă dieta, conținutul minim recomandat este de 10 mg pentru bărbați și femei postmenopauză și 15 mg pentru femeile premenopauză. Doar 10-15% din fierul conținut în dietă este absorbit în mod normal, de aceea deficitul de fier este frecvent întâlnit. Cea mai bună absorbție o prezintă fierul heminic, întâlnit în produsele din carne. Fierul neheminic, din plante nu este absorbit cu ușurință și datorită faptului că acestea conțin oxalați, fitați, tanine și alți compuși fenolici ce formează chelați sau precipitate insolubile cu fierul, prevenind astfel absorbția acestuia.

Vitamina C crește absorbția fierului neheminic la nivelul tractului digestiv. Forma de absorbție a fierului este cea de ion feros (Fe^{2+}) care este oxidat apoi la fier feric (Fe^{3+}) sub acțiunea ceruloplasminei (enzimă ce conține cupru), formă sub care este transportat în organism. Deoarece ionii de fier sunt toxi-

Scanned with OKEN Scanner

ci, aceştia sunt legaţi în organism de proteine.

Principalele 4 tipuri de celule care determină cantitatea fierului şi distribuţia acestuia în organism, sunt: enterocitele duodenale (influenţează absorbţia fierului dietar), precursorii eritroizi (influenţează utilizarea fierului), macrofagele reticuloendoteliale (influenţează depozitarea şi reutilizarea fierului), respectiv hepatocitele (care influenţează depozitarea fierului şi reglarea endocrină). Fiecare dintre aceste celule are un rol esenţial în ciclul homeostaziei fierului (Fig 13.30).

Enterocitele

Pentru menţinerea echilibrului homeostatic şi compensarea pierderilor rezultate din celulele descuamate, sunt necesare doar 1-3 mg de fier absorbit pe zi.

Deoarece nu există procese fiziologice de reglare ale excreţiei fierului, absorbţia acestuia este puternic reglată, fierul dietar fiind în principal absorbit de către enterocitele duodenale. După reducerea fierului la nivelul membranei apicale, acesta este preluat în celulă prin intermediul Transportorului Metalic Divalent 1 (DMT1), prin mecanisme incomplet caracterizate/elucidate. O mare parte din fierul preluat din fiecare sursă este stocat sub formă de feritină şi se

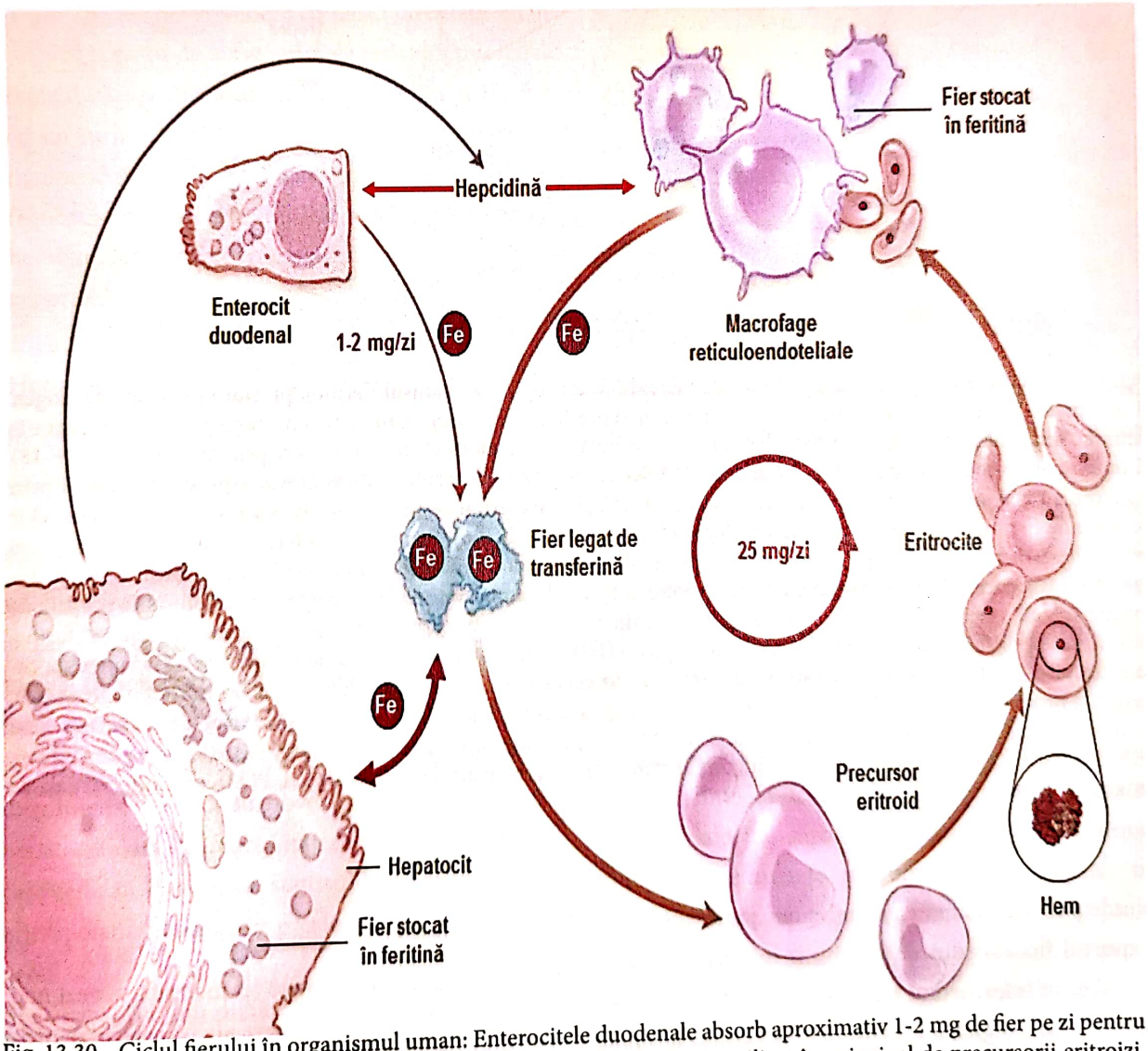


Fig. 13.30. Ciclul fierului în organismul uman: Enterocitele duodenale absorb aproximativ 1-2 mg de fier pe zi pentru a compensa pierderile. Fierul absorbit circulă legat de transferina şi este utilizat în principal de precursorii eritroizi, pentru sinteza hemului. Macrofagele reticuloendoteliale distrug eritrocitele îmbătrânite şi eliberează fierul din hem pentru ca acesta să poată fi exportat în circulaţie sau pentru a fi stocat în feritină. Hepatocitele reprezintă un alt loc de depozitare a fierului sub formă de feritină şi constituie principalul loc de producere a hormonului peptidic hepcidina. Aceasta inhibă eliberarea fierului din enterocite şi macrofage reticuloendoteliale prin degradarea feroportinei, un exportator de fier.

Scanned with OKEN Scanner

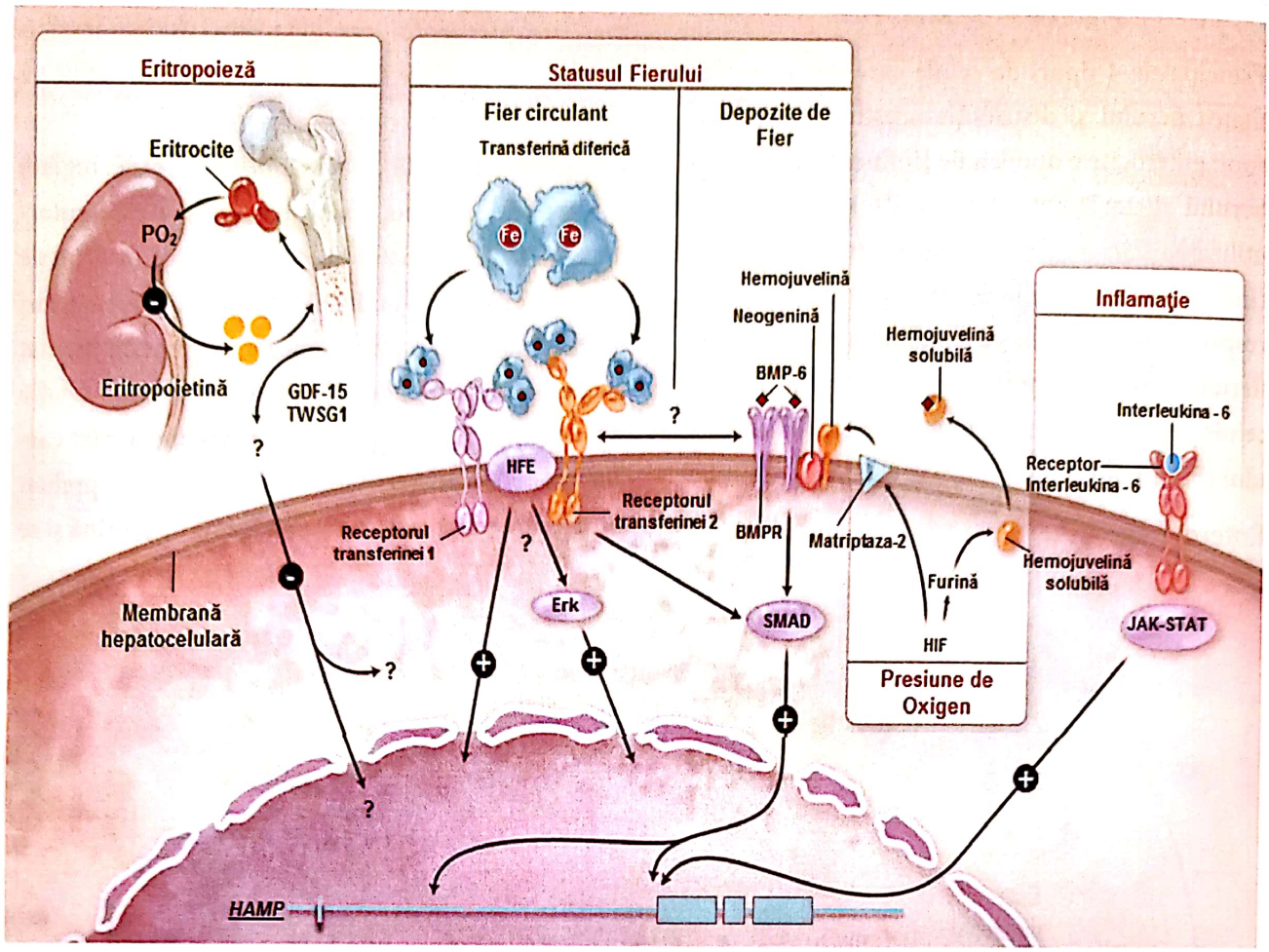


Fig. 13.31. Cele 4 căi funcţionale definite de hepcidină: eritropoieza, statusul fierului, presiunea parţială de oxigen şi inflamaţia. Eritropoieza crescută este asociată cu o expresie redusă a hepcidinei, prin mecanisme care urmează a fi definite. Moleculele semnal candidate derivate din măduvă, includ: factorul de diferenţiere prin creştere 15 (GDF-15) şi omologul proteinei de gastrulaţie răsucit 1 (TWSG1). Un status al fierului ridicat creşte expresia hepcidinei prin 2 mecanisme: o semnalizare a fierului circulant realizată prin fero-transferină, respectiv o semnalizare a depozitelor celulare de fier, realizată prin proteina morfogenetică osoasă 6 (BMP-6). Semnalizarea fero-transferinei se realizează prin receptorii transferinei 1şi 2, fiind modulată de proteina hemocromatozei HFE. Semnalizarea BMP-6 se realizează prin receptorii săi, fiind modulată de coreceptorul BMP al hemojuvelinei şi a neogeninei. O presiune parţială de oxigen scăzută conduce la o expresie scăzută a hepcidinei prin creşterea transcripţiei a 2 gene, matriptaza-2 şi furina, care sunt responsabile de factorul inductibil de hipoxie (HIF). Matriptaza-2 clivează hemojuvelina de la suprafaţa celulei, împiedicând funcţionarea acesteia sub formă de coreceptor. Furina clivează hemojuvelina în timpul procesării, pentru a produce o formă solubilă, ce serveşte ca "momeală" pentru BMP-6. Infecţiile şi alte forme de inflamaţie cresc expresia hepcidinei prin citokina interleukina-6. BMPR = proteina morfogenetică osoasă, HAMP =gena hepcidinei, JAK-STAT= kinaza asociată Janus-transductori ai semnalizării şi activatori ai transcripţiei, PO2= presiune parţială de oxigen.

pierde prin descuamarea enterocitelor îmbătrânite. Exportul fierului din enterocite în plasmă se realizează prin intermediul transportorului bazolateral, feroportina. Reglarea sistemică a absorbţiei fierului este mediată hormonal, prin intermediul hepcidinei. Aceasta se leagă de feroportină şi induce degradarea ei, reducând astfel transferul fierului din enterocite în circulaţie, (Fig 13.31).

Fierul circulant

Fierul eliberat din enterocite (şi macrofage, vezi mai jos) se leagă de situsurile libere ale transferinei, proteina de transport al fierului la nivel plasmatic. Deoarece capacitatea de legare a transferinei depăşeşte în mod normal concentraţiile plasmatice de fier (gradul de saturare al transferinei normale este de aproximativ 30%), fierul legat de transferină este

Scanned with OKEN Scanner

singura sursă fiziologică de fier, disponibilă pentru majoritatea celulelor (macrofagele reticuloendoteliale constituie excepţia). Celulele reglează aportul de fier legat de transferină, prin modificarea expresiei receptorului de suprafaţă al transferinei 1 (TfR1), endozomi de reciclare. Prin acidificarea endozomilor, fierul este eliberat şi apoi exportat de către DMT1.

Macrofagele reticuloendoteliale

Celulele reticuloendoteliale reprezintă principalul loc de depozitare al fierului mediat de hepcidină. La echilibru, aceste celule eliberează aproximativ 25 mg fier pe zi. Având în vedere că fierul circulant cuantifică mai puţin de 3 mg, celulele reticuloendoteliale reprezintă cel mai dinamic compartiment de fier, cu un turn-over de peste 10 ori pe zi. Celulele reticuloendoteliale acumulează cel mai mult fier din fagocitoza eritrocitelor îmbătrânite. După eliberarea hemului, fierul poate fi stocat sub formă feritină sau exportat în circulaţie.

Hepatocitele

În mod similar celulelor reticuloendoteliale, hepatocitele constituie un important loc de depozitare al fierului sub formă de feritină. Cel mai important, hepatocitele au un rol central în homeostazia fierului, fiind un loc de reglare a producţiei de hepcidină. Aceasta funcţionează ca un hormon hiposideremic, mediat de feroportină. În consecinţă, retenţia fierului în enterocitele duodenale reduce absorbţia fierului dietar, iar retenţia fierului în macrofagele reticuloendoteliale reduce turnover-ul fierului. Producţia hepatocelulară de hepcidină este reglată de semnale care reflectă inflamaţia, statusul fierului, activitatea eritropoietică, respectiv presiunea parţială de oxigen.

Fierul absorbit din dietă este transportat prin sânge legat de apotransferină sub forma complexului numit transferină. Stocarea fierului are loc în toate ţesuturile dar mai ales în ficat, splină şi măduva spinării. Forma de stocare a fierului este reprezentată de feritină, un complex alcătuit din apoferitină şi Fe^{3+}. În mod normal, în sânge se găseşte o mică parte din feritină. Concentraţia feritinei serice creşte o dată cu creşterea depozitelor de fier, fiind astfel un indicator util al acestora.

În cazul unei hemoragii, feritina denaturată se acumulează în macrofage sub formă de hemosiderină în urma procesului de fagocitare a eritrocitelor.

În ficat hemosiderina se acumulează ca urmare a unor transfuzii. Fierul poate fi mobilizat din depozitele de feritină, transportate prin sânge sub forma transferinei şi preluat prin endocitoză de către celulele care îl utilizează.

Patobiochimie. Deficienţe ale enzimelor implicate în sinteza hem-ului

Stările patologice caracterizate prin eliminarea crescută în urină şi materii fecale a unora dintre intermediarii biosintezei hem-ului ca urmare a unor defecte genetice în genele care codifică enzime necesare penru sinteza hem-ului se numesc porfirii. Intermediarii căii de sinteză se acumulează în organism având efecte toxice asupra sistemului nervos, ceea ce determină aparitia simptomelor neuropsihiatrice, (Fig 13.32).

Porfiriile cauzate de defecte enzimatice ereditare se numesc primare, porfiriile secundare se datorează altor afecţiuni (intoxicaţii, diabet cu acidoză). Deşi deficitul enzimatic este prezent la nivelul mai multor ţesuturi, el se manifestă prioritar la nivelul unora dintre acestea, cele mai frecvente fiind cele hepatice şi eritropoietice. δ- ALA dehidrataza (enzimă ce conţine zinc) şi ferochelataza sunt inactivate de plumb, datorită capacităţii acestuia de a mima funcţia unor metale precum fierul şi zincul. n intoxicaţia cu plumb (saturnism) δ-alanina şi protoporfirina IX se acumulează în organism iar producţia de hem scade. Acest lucru duce la apariţia anemiei şi la scăderea sintezei de ATP prin blocarea citocromilor din lanţul transportorilor de hidrogen şi electroni. Deficitul enzimatic congenital al δ-ALA dehidratazei determină apariţia porfiriei fără a fi însoţită de anemie, fiind necesar diagnosticul

Scanned with OKEN Scanner

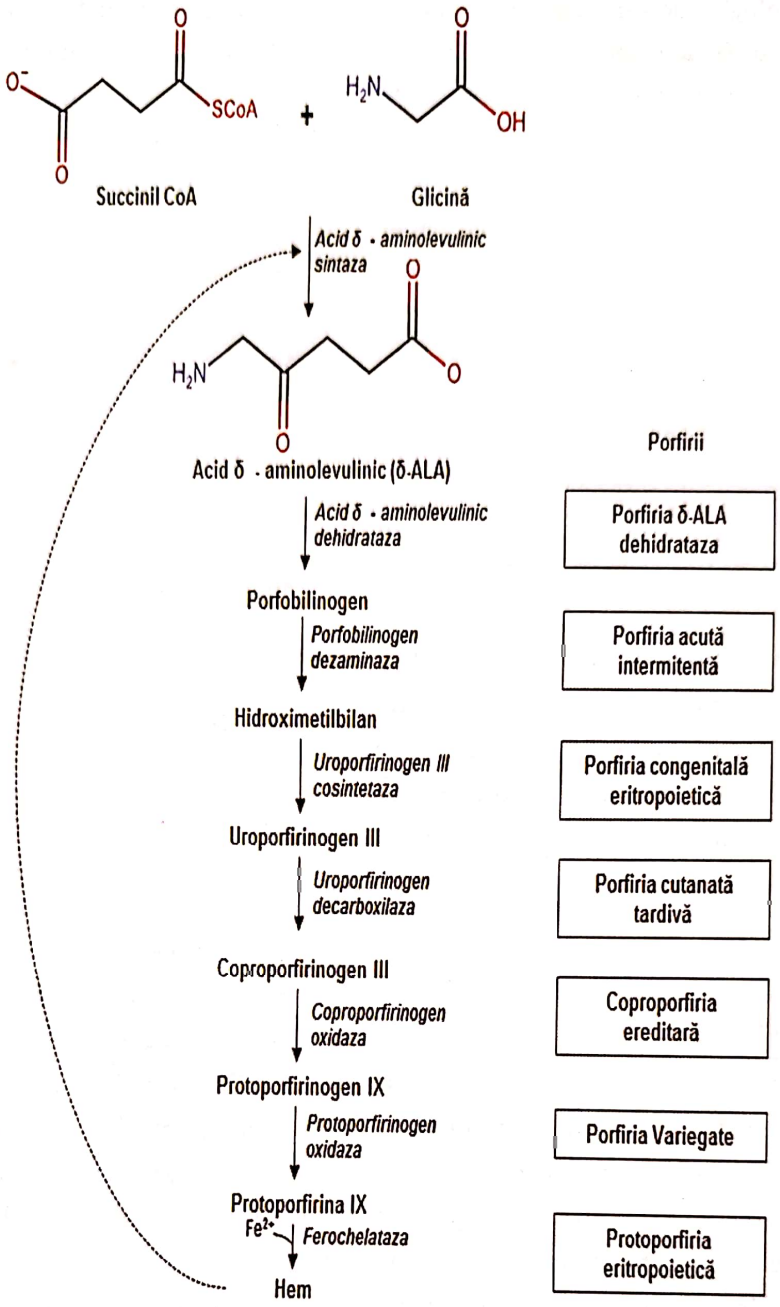


Fig. 13.32. Porfirii

diferenţial al intoxicaţiei cu plumb ce este însoţită de anemie.

Principalele porfirii hepatice acutecu determinism genetic sunt: porfiria acută intermitentă, porfiria cutanea tarda, porfiria variegata, coproporfiria eredi-tară.

Porfiria acută intermitentăse datorează activităţii reduse a uroporfirinogensintazei determină eliminarea urinară crescută de acid δ-aminolevulinic şi porfobilinogen. Aceşti compuşi incolori se oxidează în contact cu aerul urina devenind închisă la culoare. Boala se manifestă clinic prin: dureri abdominale, vărsături, leziuni ale sistemului nervos periferic (pareze, paralizii) şi central (psihoze, halucinaţii, Parkinson).

Porfiria cutanea tarda este cea mai frecventă formă, cauzată de deficienţa parţială a uroporfirinogen decarboxilazei ce se caracterizează prin eliminarea crescută de uroporfirinogen III şi I, eliminarea de acid δ-aminolevulinic şi porfobilinogen fiind normală sau uşor crescută. Manifestările clinice constau în: fotosensibilitate cutanată, manifestări neurolog-

Scanned with OKEN Scanner

ice accentuale de alcool şi unele medicamente.

Coproporfiria ereditară este cauzată de deficitul enzimatic ereditar în biosinteza coproporfirinogen oxidazei cu eliminarea prin urină a coproporfirinogenului III care este rapid oxidat la coproporfirina III, compus colorat în roşu. Această boală se aseamănă cu porfiria acută intermitentă, tabloul clinic fiind completat de fotosensibilitate.

Porfiria variegată se datorează sintezei defectuoase a protoporfirinogen oxidazei (posibil şi a ferochelatazei). Boala este rară şi biochimic se caracterizează prin eliminare urinară crescută de protoporfirină, coproporfirină III, uroporfirină şi o porfirină atipică hidrofilă (notată cu X). Clinic se caracterizează prin simptome asemănatoare coproporfiriei ereditare, inclusiv fotosensibilitate cutanată.

Porfiriile eritropoietice sunt reprezentate de: porfiria eritropoietică congenitală şi protoporfiria.

Porfiria eritreopoietică congenitală este o afectiune rară a cărui defect constă în sinteza deficitară a uroporfirinogen III cosintetază, ce are drept consecinţă eliminarea prin urină şi fecale a uroporfirinogenului I şi coproporfirinogenului I, care se oxidează la porfirinele corespunzătoare, urina căpătând culoare roşie. Clinic, boala se manifestă prin hepatomegalie, depunerea porfirinei I la nivelul dinţilor determină culoarea roşie a acestora. Porfiria este determinată de deficienţa sintezei ferochelatazei şi este asociată clinic cu urticarie în urma expunerii la lumină. Eritrocitele, plasma şi fecalele conţin cantităţi mari de protoporfirină IX.

Hiperbilirubinemiile

În metabolismul bilirubinei se disting trei mari etape:

1. etapa prehepatocitară: sinteza pigmentului biliar;
2. etapa hepatocitară: constă în captare, conjugare şi excreţie;
3. etapa posthepatocitară: excreţia biliară a pigmentului.

Colorarea în galben a tegumentelor şi mucoaselor datorată creşterii concentraţiei sanguine a bilirubinei peste valoarea normală este cunoscută sub numele de icter.

În funcţie de etapa metabolică afectată se disting:

1. Ictere prehepatocitare – ca urmare a unei hiperproducţii de bilirubină;
2. Ictere hepatocitare – în principal alterarea conjugării şi/sau excreţiei pigmentului;
3. Ictere posthepatocitare – obstructive, colestatice.

Funcţie de tipul de bilirubină prezent în plasmă, se disting hiperbilirubinemii cu bilirubină neconjugată şi hiperbilirubinemii cu bilirubină conjugată. Dintre cele cu bilirubină neconjugată fac parte:

1. Icterul „fiziologic" al nou născutului care are drept cauză o hemoliză accentuată corelată cu imaturitatea ficatului de a prelua, conjuga şi excreta bilirubina. Bilirubina neconjugată este capabilă să străbată bariera hematoencefalică, producând encefalopatia toxică sau kernicterul.
2. Sindromul Crigler-Najjar este caracterizat prin incapacitatea ficatului de a sintetiza UDP-glucuronil transferaza specifică pentru conjugarea bilirubinei ce are drept consecinţă creşterea nivelului plasmatic al bilirubinei neconjugate.
3. Boala Gilbert este determinată de tulburări ale captării bilirubinei de către ficat şi ale mecanismului de preluare a bilirubinei conjugate de către canaliculele biliare.

Deficitul enzimatic poate fi dobândit aşa cum se întâmplă în cazul agresiunilor toxice sau infecţioase asupra hepatocitului.

Hiperbilirubinemiile cu bilirubină conjugată se datorează defectelor în transportul bilirubinei către polul biliar al celulei şi excreţia acesteia. Mecanismul este întâlnit într-o serie de boli ereditare precum: sindromul Dubin-Johnson, sindromul Rotor, sindromul Sumerskill, dar şi în afecţiuni dobândite (ciroza hepatică, hepatite acute şi cronice, ictere postoperatorii, colestaze medicamentoase).

Icterele „obstructive" se datorează blocării totale sau parţiale a canalelor biliare, manifestată prin acumularea în sânge a bilirubinei conjugate.

Hiperbilirubinemiile cu ambele forme de bilirubină caracterizează:

Scanned with OKEN Scanner

1. Icterele hemolitice datorate lizei anormale a eritrocitelor cu creşterea în sânge a nivelului bilirubinei neconjugate, iar dacă hemoliza este accentuată creşte şi nivelul bilirubinei conjugate, cu eliminarea prin urină a unei cantităţi mari de urobilinogen;
2. Icterele hepatocelulare sunt semnalate în afecţiuni hepatice (hepatite, ciroze hepatice, hepatopatiile alcoolice), raportul bilirubină conjugată/bilirubină liberă din plasmă variază în funcţie de gravitatea bolii.

Decarboxilarea aminoacizilor

Reprezintă o cale de degradare a acestora prin care se formează amine biogene cu importante roluri biologice în organism (neurotransmiţători, hormoni), precum şi amine structurale (ce participă la sinteza poliaminelor, hemului şi sfingolipidelor).

Decarboxilarea acidului glutamic formează GABA (acid γ aminobutiric) printr-o reacţie catalizată de glutamic acid decarboxilaza. GABA reprezintă principalul neurotransmiţător inhibitor la nivelul SNC, alterarea funcţiei lui fiind implicată în multe boli neurologice şi psihiatrice. GABA este reciclat la nivelul sistemului nervos printr-o serie de reacţii ce alcătuiesc GABA şi conservă glutamatul şi GABA. (Fig 13.33).

Prin decarboxilarea histidinei se formează histamină printr-o reacţie catalizată de histidin decarboxilază. Histamina îndeplineşte în organism multiple funcţii: vasodilatator, bronhoconstrictor, stimulează secreţia HCl, la nivelul creierului are rol de neurotransmiţător.

Ornitina, intermediar al ciclului ureogenetic, prin decarboxilare formează putresceina, ce intervine în reglarea ADN şi reglarea biosintezei proteice.

Etapa iniţială de sinteză a sfingolipidelor presupune decarboxilarea serinei, de asemenea sinteza hemului presupune decarboxilarea glicinei.

Aminoacizii aromatici prin decarboxilare formează compuşi ce îndeplinesc rolul de neurotransmiţători şi/sau hormoni: serotonina este formată prin decarboxilarea triptofanului, catecolaminele, dopamina, norepinefrina şi epinefrina sunt sintetizaţi din tirozină.

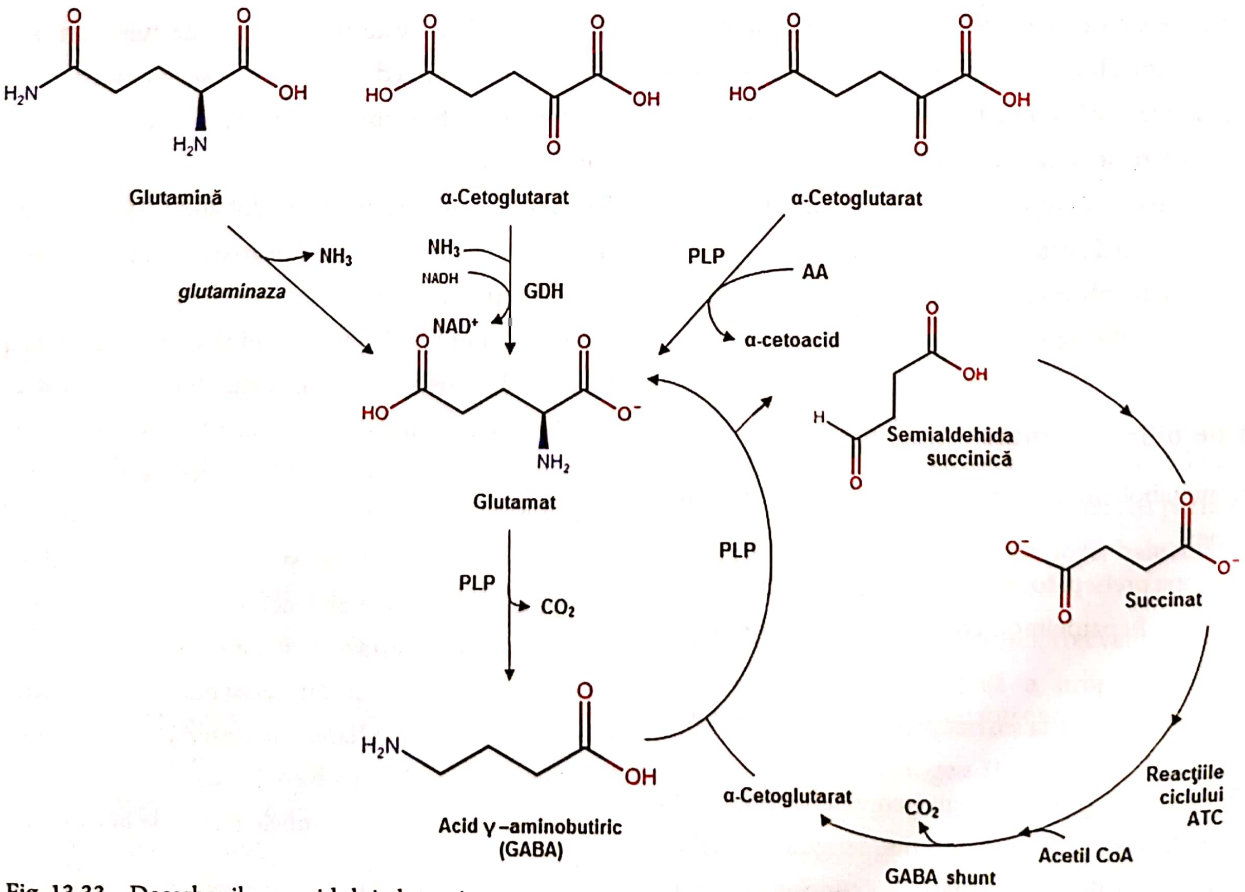


Fig. 13.33. Decarboxilarea acidului glutamic

Scanned with OKEN Scanner

Balanţa azotată. Fondul de aminoacizi

Balanta azotului în organism constă în raportul dintre cantitatea de azot ingerată sub formă de proteine sau alţi compuşi cu azot şi cantitatea de azot excretată prin urină sub formă de amoniac şi uree, la care se adaugă azotul excretat prin fecale şi piele. La un individ normal aportul compensează pierderile, balanţa fiind echilibrată. Ea devine negativă dacă N ingerat ⊠ N excretat (în inaniţie, boli infecţioase, hemoragii, traumatisme) şi pozitivă dacă N ingerat ⊠ N excretat (caracteristică organismelor în creştere, în sarcină). Cunoaşterea balanţei azotului are mare valoare în stabilirea necesarului zilnic de proteine din hrană.

Organismul uman menţine un fond comun de aminoacizi în sânge chiar în absenţa ingestiei de proteine. Dinamica fondului de aminoacizi constă în concurenţa proceselor prin care ei se obţin şi a celor prin care se consumă sau se îndepărtează (turnover-ul proteinelor). O persoană sănătoasă bine hrănită, introduce în organism prin dietă 100 g de proteine, degradarea proteinelor este de aproximativ 300-600g/zi. Turnover-ul continuu al proteinelor în organism asigură aminoacizii necesari sintezei altor compuşi proteici necesari (ex. anticorpi), permiţând totodată schimbul cantitativ al diferitelor proteine sintetizate în tesuturi ca răspuns la schimbările fiziologice ale organismului. Se îndepărtează totodată proteinele deteriorate.

Principalele surse de aminoacizi esenţiali (cei care nu pot fi sintetizaţi în organism) sunt reprezentate de proteinele din dietă şi degradarea proteinelor endogene. Din fondul comun fiecare celulă îşi procură aminoacizii necesari.

Principala utilizare a aminoacizilor fiind sinteza unor noi proteine. Aminoacizii reprezintă precursori în sinteza unor compuşi cu funcţii fiziologice esenţiale precum: nucelotide purinice şi pirimidinice, hem, neurotransmiţători, hormoni şi alţi compuşi azotaţi funcţionali. Unii dintre aceşti compuşi sunt degradaţi la comuşi azotaţi ce se elimină prin urină şi nu se întorc în fondul metabolic comun al aminoacizilor, vezi figura 13.34.

În ţesuturi, azotul este îndepărtat prin transaminare şi dezaminare oxidativă. Azotul rezultat din degra-

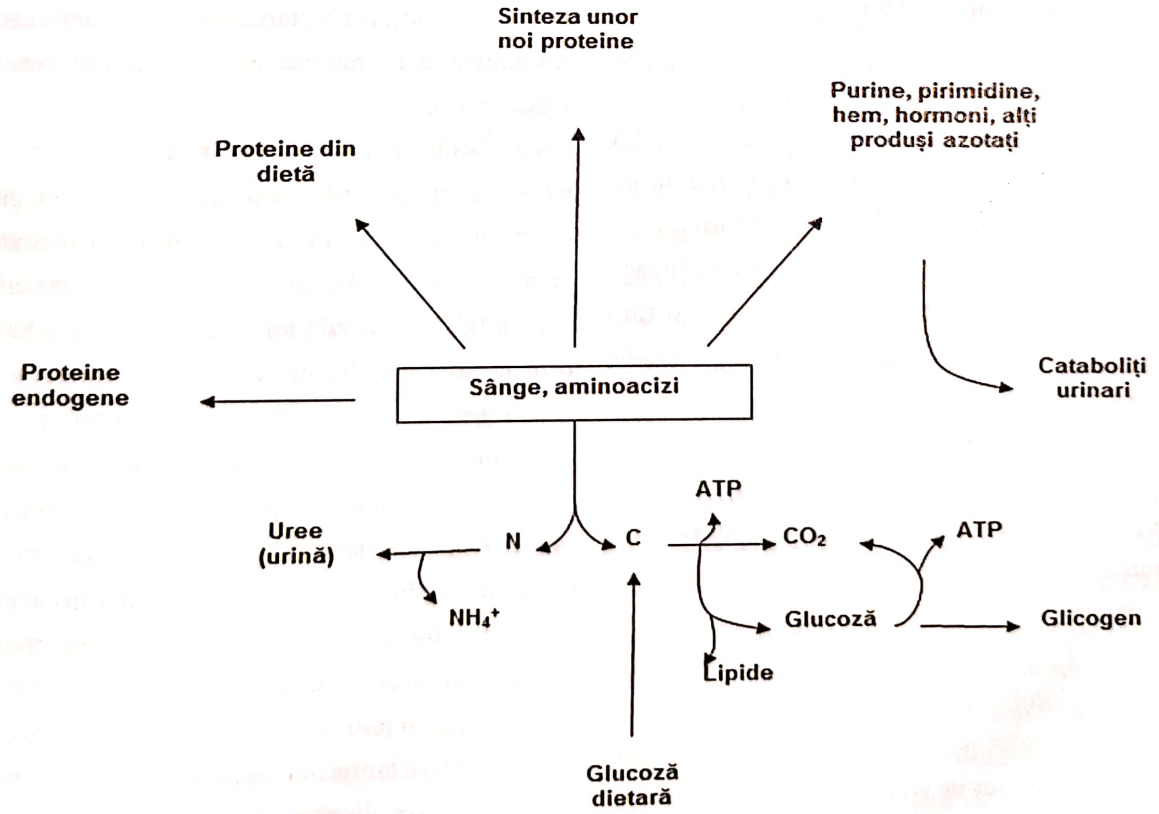


Fig. 13.34. Degradarea aminoacizilor în organism

Scanned with OKEN Scanner

darea aminoacizilor este eliminat prin urină sub formă de uree şi ion amoniu NH_4^+. Aminoacizii sunt utilizaţi în vederea obţinerii energiei fie direct fie prin convertirea lor la glucoză prin procesul de gluconeogeneză.

Schimbul de aminoacizi între organe în perioadele interdigestive este necesar pentru a menţine pool-ul de aminoacizi liberi în sânge şi oferă ţesuturilor aminoacizii necesari. În perioadele interdigestive, sinteza proteinelor în ficat şi ţesuturi este scăzută comparativ cu perioadele postprandiale, în această perioadă pool-ul de aminoacizi este menţinut în cea mai mare parte prin degradarea netă a proteinelor labile din muşchi şi alte ţesuturi.

Glutamina şi alanina reprezintă forme de transport ale grupărilor amino de la muşchii scheletici către celelalte ţesuturi. Glutamina transportă ionul amoniu la rinichi în vederea excreţiei şi serveşte drept sursă de energie pentru rinichi, intestin şi celulele sistemului imun. Alanina transportă gruparea amino de la muşchii scheletici, rinichi şi intestin, la ficat unde este transformată în uree şi eliminată. Creierul foloseşte aminoacizi în vederea sintezei neurotransmiţătorilor.

Eliberarea aminoacizilor de la nivelul muşchilor scheletici în perioadele interdigestive contribuie la menţinerea fondului comun de aminoacizi. Muşchii scheletici oxidează aminoacizii cu catenă ramificată precum valina, leucina, izoleucina, cu formare de energie şi glutamină. Gruparea amino a aminoacizilor cu catenă ramificată, a acidului aspartic şi glutamic sunt eliberate în circulaţie sub forma alaninei şi glutaminei.

Proteoliza şi eliberarea aminoacizilor de la nivelul muşchilor scheletici este stimulată de scăderea nivelului insulinei şi creşterea nivelului de glucagon ce stimulează sinteza ubiquitinei şi creşterea proteolizei ubiquitin dependente. Metabolismul aminoacizilor în ficat în perioadele interdigestive constă în captarea în cea mai mare parte a alaninei, α-cetoacizilor şi o mică parte a glutaminei. Aceştia sunt oxidaţi, scheletul lor de atomi de carbon este transformat în glucoză. Glucagonul şi hormonii glucocorticoizi stimulează captarea aminoacizilor de către ficat, crescând intensitatea proceselor de ureogeneză şi gluconeogeneză.

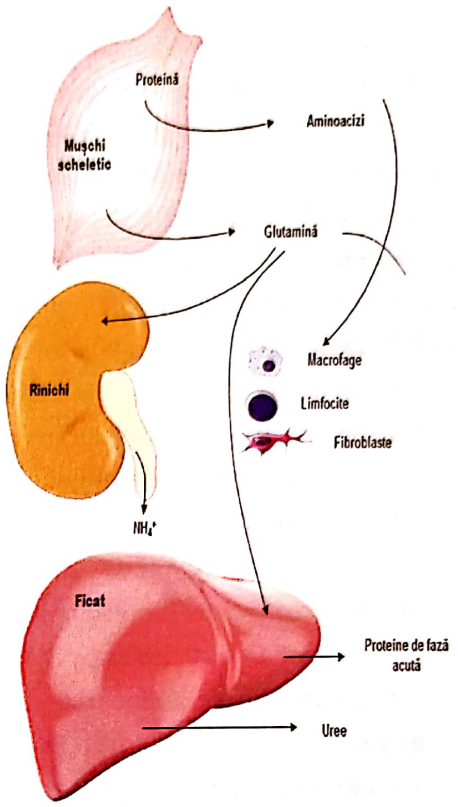


Fig. 13.35. Stare hipercatabolică

Metabolismul aminoacizilor în alte ţesuturi în perioadele interdigestive constă în utilizarea glutaminei generată de muşchii scheletici prin oxidarea aminoacizilor cu lanţ ramificat şi de către creier şi plămân (glutamina este forma de eliminare a NH_4^+ format din catabolismul aminoacizilor). Rinichiul, intestinul şi celulele cu turnover rapid (celulele sistemului imunitar) utilizează glutamina drept combustibil, ca donor al grupărilor azotate în sinteza purinelor şi ca substrat pentru obţinerea amoniacului în rinichi. Azotul neutilizat este transformat la nivelul acestor tesuturi în alanină, ce este transportată prin sânge la ficat.

Creierul este un ţesut glucodependent dar poate utiliza aminoacizii cu catenă ramificată pentru a obţine energia necesară, drept sursă de azot în sinteza neurotransmiţătorilor în perioadele interprandiale.

Scanned with OKEN Scanner

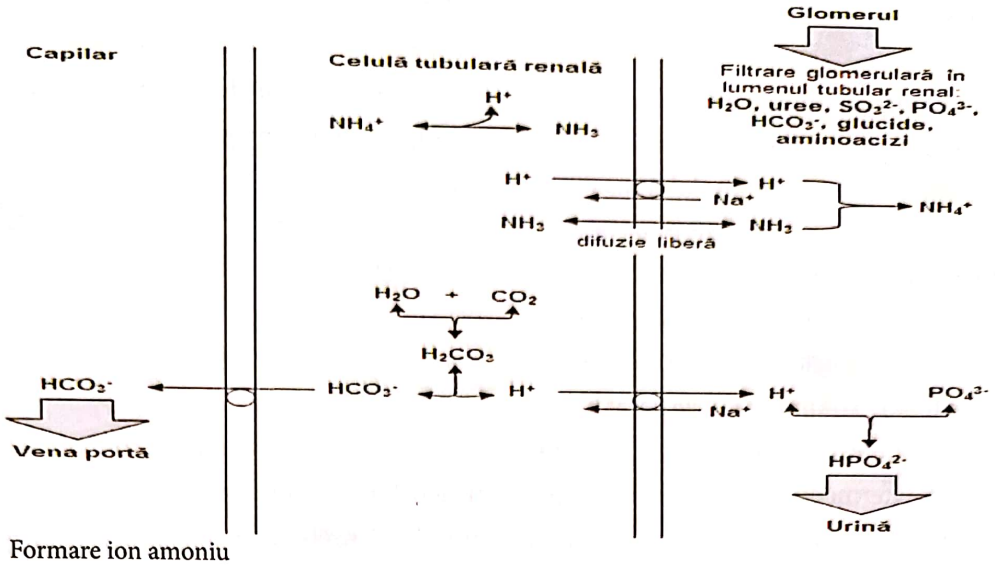


Fig. 13.36. Formare ion amoniu

Metabolismul aminoacizilor în stări hipercatabolice precum intervenţiile chirurgicale, traumatismele, arsuri sau stări septice este caracterizat de utilizarea crescută a substratelor energogene şi o de o balanţa a azotului negativă. În sepsis şi traumatisme, glutamina şi alţi aminoacizi sunt eliberaţi prin proteoliză la nivelul muşchilor scheletici şi sunt eliberaţi în circulaţie de unde sunt preluaţi de către ţesuturile implicate în răspunsul imun şi repararea tisulară (macrofage, limfocite, fibroblaşti) şi de către ficat, (13.35). Excreţia azotului sub forma ureei şi ionului amoniu sunt responsabile de o balanţă negativă a azotului. Glucoza sintetizată este eliberată în circulaţie pentru a asigura energia necesară acestor celule, pacientul putând prezenta o uşoară hiperglicemie.

Substanţele produse de către bacterii stimulează eliberarea citokinelor ce determină apariţia răspunsului simpato-adrenal. Acesta constă din eliberarea unor hormoni precum adrenalina, glucagonul şi corticosteroizi (antagonişti ai insulinei). Cortizolul poate fi principalul mediator al proteolizei musculare în timpul sepsisului, în condiţiile unui aport scăzut de proteine prin dietă. Sinteza proteinelor hepatice, în special a proteinelor de fază acută, este stimulată de către cortizol şi citokine.

Utilizarea aminoacizilor la nivelul unor organe şi ţesuturi

La nivelul celulelor tubulare renale glutamina eliberează sub acţiunea glutamatdehidrogenazei, ionul amoniu şi α-cetoglutarat. Alpha-cetoglutaratul este utilizat drept combustibil pentru rinichi şi este oxidat la CO_2, convertit în glucoză pentru a fi utilizat de celulele renale medulare sau convertit la alanină (formă sub care amoniacul se întoarce la ficat în vederea ureogenezei).

Amoniacul determină creşterea eliminării de protoni prin prin combinarea cu câte un proton pentru a forma ionul de amoniu. Sângele este filtrat la nivelul capilarelor glomerulului renal, substanţe precum apa, uree, zaharuri, aminoacizi acătuiesc filtratul glomerular ce trece la nivelul tubilor renali (proximali, ansa lui Henle, distali şi colectori) suferă procese de secreţie şi reabsorbţie în urma cărora se formează urina. Transportori specifici ce se găsesc la nivelul celulelor tubulare renale trasportă protonii în lumenul tubular la schimb cu ionii de sodiu, de aceea filtratul glomerular are o aciditate mai mare. La nivelul tubulilor renali protonii sunt tamponaţi de către fosfat, bicarbonat şi amoniac. Amoniacul nu prezită încărcătură electrică şi de aceea străbate cu uşurinţă membranele celulare combinându-se cu protonii şi formând ionul de amoniu ce nu poate fi transportat înapoi în celulă fiind de aceea eliminat prin urină. Eliminarea protonilor sub forma ionului de amoniu menajează rezerva alcalină a organismului, prin scăderea necesarului de bicarbonat, (Fig. 13.36).

Scanned with OKEN Scanner

La nivelul muşchilor scheletici se desfăşoară majoritatea proceselor de sinteză şi degradare a proteinelor. După o dietă bogată în proteine, insulina stimulează captarea aminoacizilor şi sinteza proteică. În perioadele interdigestive, scăderea nivelului insulinei şi creşterea nivelului glucagonului determină intensificarea degradării proteinelor.

Aminoacizii cu catenă ramificată joacă un rol special în muşchi şi în majoritatea ţesuturilor deoarece aceştia pot fi oxidaţi în ţesuturi (aletele decât ficatul). (13.37). Toate ţesuturile pot realiza interconversia aminoacizilor şi intermediarilor ciclului Krebs prin intermediul reacţiilor de transaminare. Această cale generează NADH şi $FADH_2$, echivalenţi reducători în vederea sintezei de ATP necesar contracţiei musculare.

Muşchiul scheletic este sursa majoră de glutamină. Scheletul de atomi de carbon şi azotul din structura glutaminei provin în principal din metabolismul aminoacizilor cu catenă ramificată. Degradarea aminoacizilor la nivelul muşchilor scheletici are drept rezultat formarea alaninei, ce transferă gruparea amino de la muşchii scheletici la ficat unde este încorporată în uree (ciclul alanină-glucoză) (Fig. 13.38).

Ficatul este locul în care are loc catabolismul aminoacizilor şi convertirea acestora în intermediari ai ciclului Krebs şi ai căii glicolitice, acetilCoA sau corpi cetonici (Fig. 13.39). Este sediul ureogenezei, ce converteşte azotul provenit de la glutamină şi

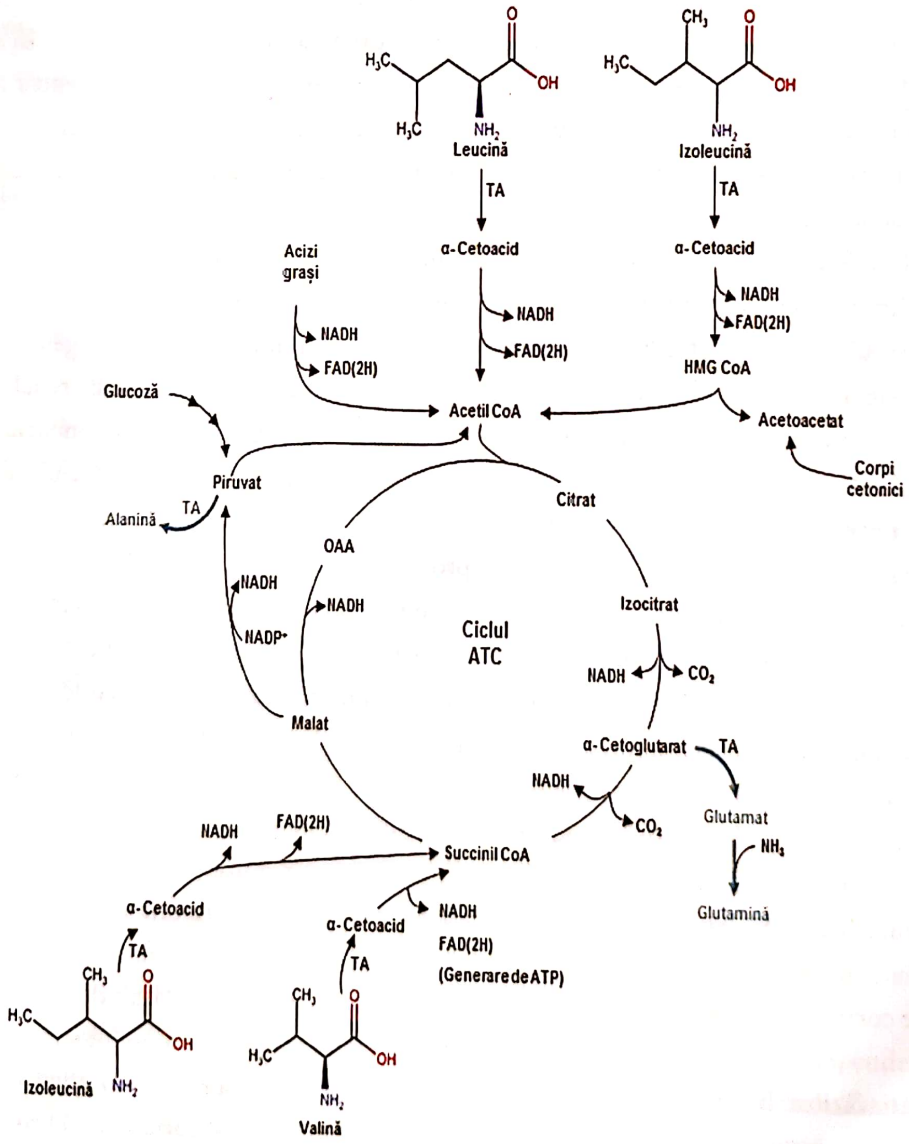


Fig. 13.37. Catabolismul aminoacizilor cu catenă ramificată cu eliberarea alaninei şi glutaminei (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

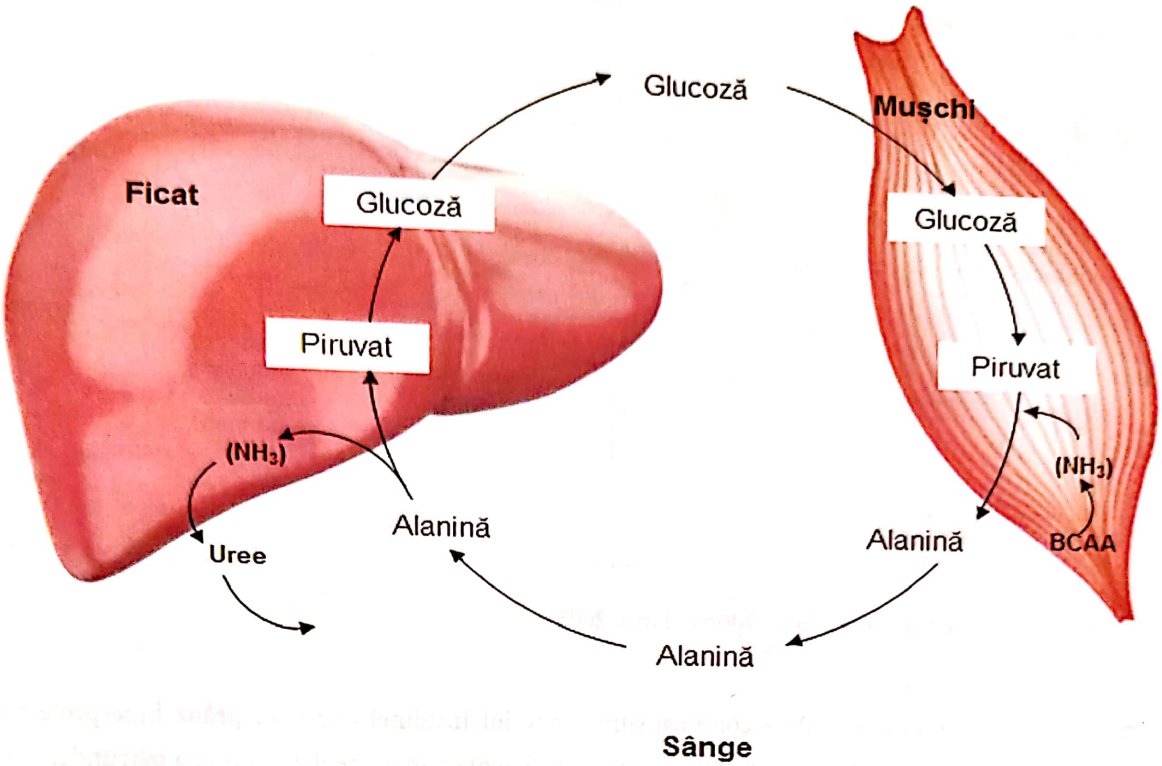


Fig. 13.38. Ciclul alanina - glucoză

alanină în uree. La nivelul ficatului se sintetizează proteinele plasmatice (albumină, transferină, proteine implicate în cascada coagulării), la acest nivel se realizează conjugarea xenobioticelor cu glicina, sinteza hem-ului, nucleotidelor purinice şi a glutationului.

Creierul poate sintetiza glutamat şi aspartat prin catabolismul aminoacizilor cu catenă ramificată şi din intermediari ai ciclului Krebs. La nivelul celulelor astrogliale glutamatul este transformat în glutamină datorită prezenţei glutamin sintetazei, prin încorporarea NH_4^+ eliberat din dezaminarea aminoacizilor şi nucleotidelor purinice. Glutamina serveşte ca transportor al azotului la nivelul creierului în vederea sintezei de neurotransmiţători. Neuronii convertesc vitamina la acid γ-aminobutiric (GABA) sau glutamat. Glutamina transportă de asemenea excesul NH_4^+ de la nivelul creierului în circulaţia sângelui, (Fig. 13.40)

Funcţia majoră a metabolismului aminoacizilor la nivelul ţesutului nervos este reprezentată de sinte-

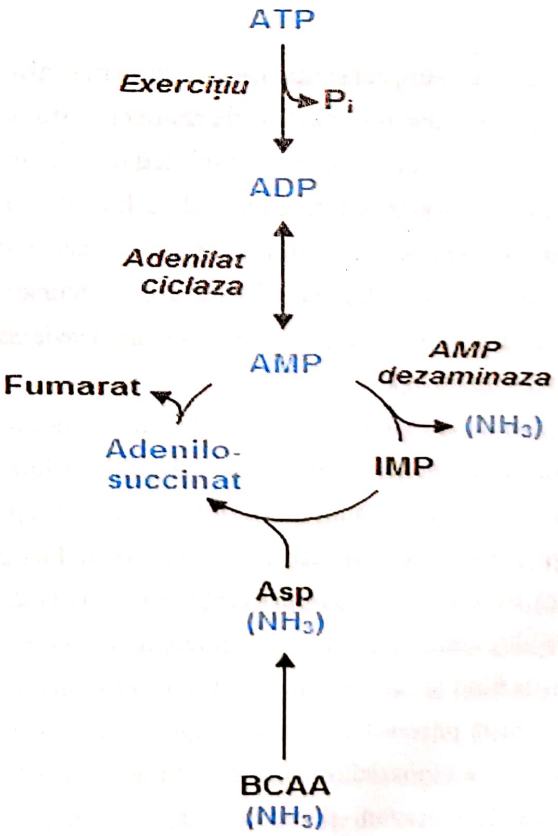


Fig. 13.39. Catabolismul BCAA (Aminoacizilor cu catenă ramificată) (după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

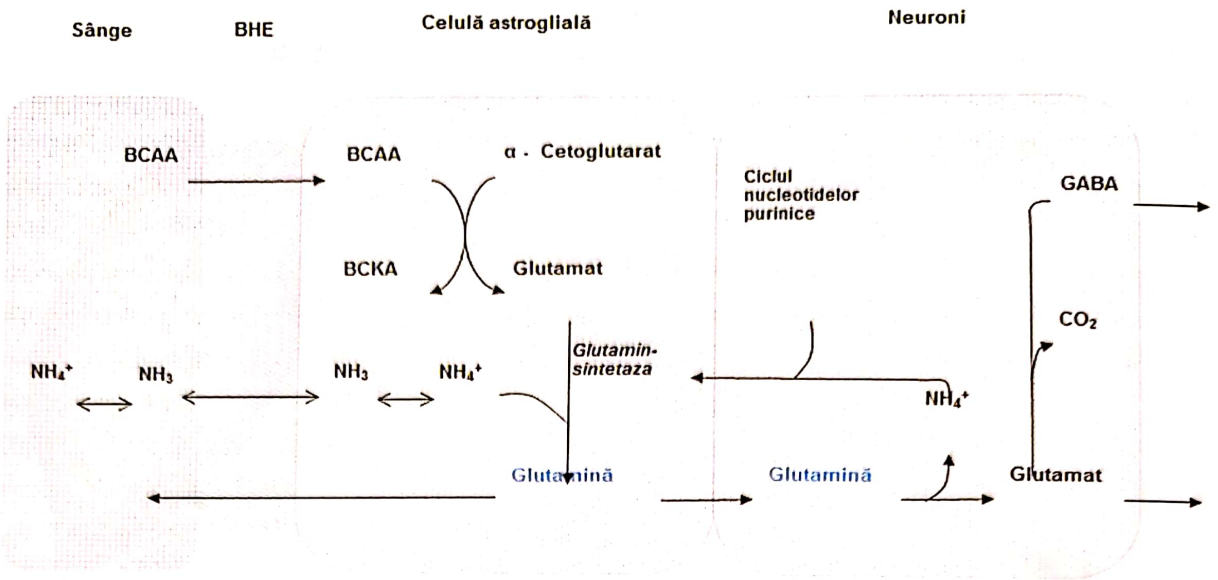


Fig. 13.40. Formarea glutaminei în SNC (după Marks, 2005)

za neurotransmiţătorilor. Peste 40 de compuşi sunt consideraţi a fi neurotransmiţători şi toţi aceştia conţin azot derivat de la aminoacizii precursori. Acesti compuşi includ aminoacizi ce servesc drept neurotransmiţători (glutamatul, glicină), catecolamine derivate de la triptofan, GABA derivat de la glutamat.

În general, neurotransmiţătorii sunt formaţi la nivelul terminaţiilor presinaptice ale axonilor şi stocaţi în vezicule până la eliberarea lor sub acţiunea schimbării de potenţial electrochimic de-a lungul axonilor. Metabolismul rapid al neurotransmiţatorilor necesită o disponibilitate continuuă de precursori din fondul de aminoacizi al organismului în vederea sintezei de novo a acestora.

După o dietă hiperproteică, ficatul si intestinul utilizează majoritatea aminoacizilor absorbiţi. Glutamatul şi aspartatul sunt utilizaţi drept sursă de energie pentru celula intestinală iar o cantitate foarte mică trece in circulaţia portală. Ficatul preia 60%-70% din aminoacizii prezenţi în circulaţia portală, acestia fiind in cea mai mare parte convertiţi în glucoză prin procesul de gluconeogeneză. Creşterea nivelului aminoacizilor din dietă stimulează eliberarea de glucagon, şi captarea aminoacizilor de către ficat, stimulând totodată gluconeogeneza (Fig. 13.41).

Nivelul insulinei după un prânz hiperproteic este suficient de mare pentru a stimula pătrunderea aminoacizilor cu catenă ramificată la nivelul muşchilor scheletici şi sinteza proteică, dar nu suficient pentru a inhiba gluconeogeneza hepatică.

Majoritatea aminoacizilor ce pătrund in circulaţie după un prânz bogat în proteine sunt reprezentaţi de aminoacizi cu catenă ramificată. Deoarece ficatul prezintă un nivel scăzut al transaminazelor, aminoacizii în exces nu pot fi oxidaţi şi pătrund în circulaţia sistemică de unde sunt captaţi de muşchii scheletici şi alte ţesuturi şi utilizaţi in principal pentru sinteza proteică.

Patobiochimie

Malabsorbţiile ereditare ale aminoacizilor

Prezintă mai multe trăsături comune: sunt de natură ereditară, rezultă din mutaţii genetice, realizeaza tablouri clinice particulare si sunt definite prin perturbări ale transportului epitelial al aminoacizilor.

Exista două categorii principale de afecţiuni:

1. Aminoacidopatii prin disfuncţie epitelială, ce determină o acumulare în organism a unuia sau mai multor aminoacizi sau a metaboliţilor lor.
2. Aminoacidopatii prin defect al sistemului de transport care interferă cu absorbţia la nivel intestinal si/sau reabsorbţia tubulară renală.

Scanned with OKEN Scanner

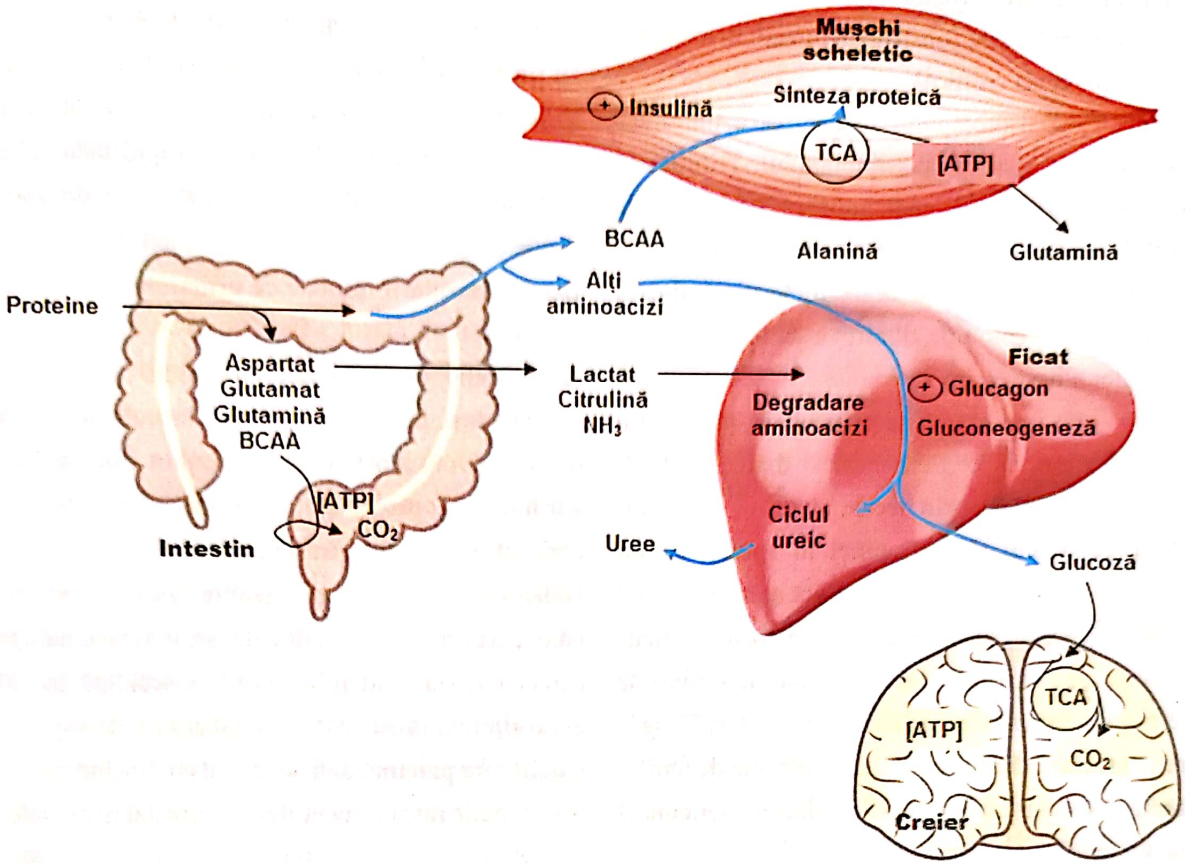


Fig. 13. 41. Postprandial (modificată după Marks, 2005)

Sindromul Kwashiorkor – boală cauzată de deficienţa proteică din dietă (întâlnită în special în ţarile subdezvoltate). Copiii cu acest sindrom prezintă oboseală musculară, şi scaderea concentraţiei proteinelor plasmatice, în special a albuminei, rezultatul fiind o creştere a lichidului interstiţial cu apariţia edemelor şi a distensiei abdominale. Aceste manifestări sunt determinate de o scădere a capacităţii de sinteză a enzimelor digestive datorată scăderii fondului de aminoacizi necesari sintezei proteice.

Boala Hartnup este o boală cu transmitere autozomal-recesivă produsă prin tulburarea transportului aminoacizilor neutrii la nivelul epiteliului intestinal şi tubilor renali. Tabloul clinic cuprinde:

1. manifestări cutanate – rash pelagroid prin deficienţă de nicotinamidă datorată malabsorbţiei triptofanului şi inhibiţiei conversiei acestuia în nicotinamidă de catre indolul produs prin metabolizarea bacteriană a triptofanului;
2. manifestări neurologice – episoade de ataxie cerebeloasă, tremurături, hipotonie musculară;
3. manifestări psihiatrice – asemanatoare celor pelagroide: instabilitate emoţională, halucinaţii, accese colerice, delir.

Un semn constant al bolii este aminoaciduria. Excreţia metaboliţilor bacterieni ai triptofanului (indol, triptamină, acid indolil 3-acetic, acid indolil 3-propionic) poate fi provocată de încărcarea cu triptofan.

Cistinuria este o boală cu transmitere autozomal-recesivă, frecventă la bărbaţi, produsă prin tulburarea transportului epitelial al aminoacizilor dibazici (lizină, ornitină, arginină) şi a cistinei la nivelul enterocitului şi a celulelor tubulare renale. Deoarece aceşti aminoacizi pot fi sintetizaţi în organism, boala nu prezintă manifestări datorate deficienţei acestora. Subiecţii devin simptomatici în decadele a 2-a şi a 3-a de viaţă, manifestările clinice se datorează litia-

Scanned with OKEN Scanner

zei urinare cistinice (datorată insolubilităţii cistinei) şi complicaţiilor sale (obstrucţii, infecţii urinare, insuficienţa renală cronică).

Malabsorbţia triptofanului se datoreaza tulburării transportului epitelial al triptofanului. Triptofanul neabsorbit este supus metabolizării bacteriene la nivelul intestinului şi formează metaboliţi precum indigotina (conjugarea a două molecule indican) care determină coloraţia albastră a scutecelor (boala scutecelor albastre).

Malabsorbţia metioninei se evidenţiază prin testul de încărcare orală ce determina o diaree profuză, creşterea eliminării prin fecale şi urină a metaboliţilor bacterieni ai metioninei în special acidul α-hidroxi-butiric. Acest luctu explică atât sindromul diareic (prin efect osmotic) cât şi mirosul particular (de hamei) al urinei. Malabsorbţia metioninei se întâlneşte şi în sindromul descris de Smith şi Strog la care se asociază eliminare urinară crescută de fenilalanină, acid fenil piruvic, acid fenilacetic, leucină şi izoleucină.

Sindromul Lowe are la bază un deficit de transport al lizinei şi argininei şi se caracterizează prin retardare mintală, cataractă şi insuficienţă renală.

Iminoglicinuria familială (boala Joseph) este o boală cu transmitere autosomal recesivă care are la bază un defect de transport al glicinei şi iminoacizilor (prolina şi hidroxiprolina). Boala se caracterizează prin eliminarea urinară crescută a acestor aminoacizi fără a se semnala manifestări clinice.

Intoleranţa la proteine ce conţin lizină reprezintă un defect de transport intestinal al aminoacizilor dibazici ce nu traversează membrana bazală a enterocitului. Se manifestă prin tulburări de creştere, greaţă, vărsături, diaree.

Boli cauzate de defecte în metabolizarea amoniacului

Snt boli congenitale datorate defectelor în sinteza enzimelor ciclului ureogenetic (carbamilfosfatsintetaza si ornitin-carbamiltransferază) având drept consecinţă acumularea acestuia în sânge şi ţesuturi cu consecinţe multiple. Ţesuturile consumă cantităţi mari de α-cetoglutarat, intensitatea ciclului Krebs scade, deci scade producţia de ATP.

La nivelul creierului reacţia catalizată de glutaminsintetază necesită ATP, consumul acestuia creşte corespunzător, creierul resimţind rapid deficitul de ATP. În hiperamoniemii alături de stări de vomă, ataxie, iritabilitate, letargie, se semnalizează şi întârzierea dezvoltării mintale ca urmare a unor leziuni cerebrale.

Aceste deficite pot fi ameliorate printr-un regim alimentar sărac în proteine şi prin adaosul unor α-acetoacizi ce vor încorpora amoniacul în aminoacizi ce vor fi utilizaţi pentru sinteza proteică, scăzând astfel concentraţia acestuia în sânge.

Deficitul de argininsuccinatsintetază este caracteristic citrulinuriei, deficitul de argininsuccinatliază caracterizează acidemia argininosuccinică iar hiperargininemia este datorată deficitului de arginază. Copiii care prezintă deficienţe ale enzimelor ciclului ureogenetic nu supravieţuiesc perioadei neonatale.

Defecte în utilizarea scheletului atomilor de carbon

Fenilcetonuria se datorează în forma "clasică" unui defect în sinteza părţii proteice a fenil-alaninhidroxilazei, iar în formă atipică defectul este la nivelul sintezei coenzimei (tetrahidrobiopteridină). Fenilalanina care se acumulează este transformată prin transaminare în acid fenilpiruvic si din acesta se formează acid fenilacetic, acid fenil-lactic si fenil acetilglutamină. Aceştia sunt compuşi toxici in special pentru creier, la nivelul căruia se produc demielinizări ireversibile şi leziuni ce determină "idioţia fenlipiruvică". Sunt inhibate tirozinhidroxilaza şi triptofanhidroxilaza, fiind afectată sinteza serotoninei şi L-DOPA.

Alcaptonuria este datorată unui defect in biosinteza homogentizatoxidazei, enzimă implicată in catabolismul fenilalaninei şi tirozinei. Acidul homogentizic se acumulează în sânge şi este eliminat prin urină. Acesta se autooxidează in contact cu aerul formând un pigment de culoare închisă ce pătează scutecul copilului afectat. După 30 ani, acumularea cronică a

Scanned with OKEN Scanner

pigmentilor la nivelul cartilagiilor determină apariţia durerilor articulare artritice.

Urina cu miros de arţar este o boală datorată activităţii scăzute a complexului multienzimatic al α-cetoacid-dehidrogenazei, enzimă implicată in metabolismul aminoacizilor cu catenă ramificată (valină, leucină, izoleucină). α-cetoacizilor corespunzători, cu efecte toxice.

Aciduria metilmalonică este cauzată de deficitul în conversia metilmalonil-CoA la succinil-CoA. Defectul genetic este localizat la nivelul sintezei din vitamina B12 a coenzimei implicată în această reacţie. Se acumulează acil metilmalonic şi cetone cu catene lungi, având drept consecinţă manifestări clinice precum hipotonie, hepatomegalie, osteoporoză. Formele severe se caracterizează prin comă şi şoc în primele săptamâni de viaţă.

Hiperoxaluria se caracterizează prin excreţia urinară a unor cantităţi mari de acid oxalic, nefrolitiaza şi insuficienţă renală. Cauza este reprezentată de activitatea scăzută a enzimei α-cetoglutarat-carboxiligază implicată in catabolismul glicinei, având drept consecinţă formarea acidului oxalic ce se depune la nivelul rinichiului sub forma oxalatului de calciu.

Albinismul este o boală ce se datorează deficitului de tirozinhidroxilază (Cu-dependentă), enzimă implicată în conversia tirozinei la melanină (la nivelul melanocitelor. Indivizii cu albinism prezintă absenţa pigmentului la nivelul tegumentelor, părului şi ochilor, precum şi fotosensibilitate.

Deficitul de dopamină la nivelul sistemului nervos central caracterizează boala Parkinson.

Metabolismul nucleotidele purinice şi pirimidinice

Sinteza bazelor purinice

Acestea intră în structura acizilor nucleici si sunt sintetizate folosind aminoacizi. Sinteza de novo este localizată în ficat, de aici bazele azotate şi nucleozidele sunt transportate spre alte ţesuturi de către eritrocite. Sinteza nucleotidelor purinice necesită o serie de materii prime precum: glicină, acid asparTic, glutamină, CO_2, unitaţi C1-tetrahidrofolat, (Fig 13.42.).

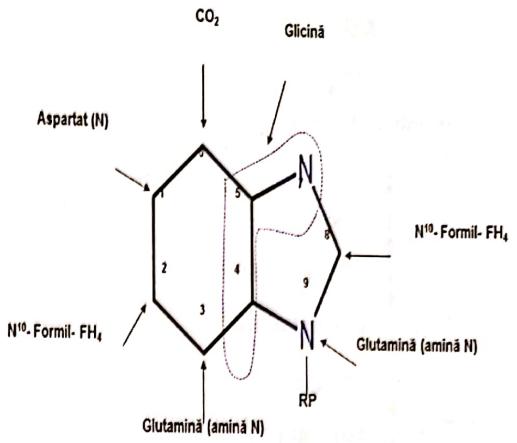


Fig. 13.42. Materii prime necesare pentru sinteza nucleotidelor purinice

În această cale de biosinteză nu se formează baze purinice libere ci direct ribonucleotide.

Reacţia ce precede debutul a căii de sinteză, constă în activarea ribozo-5-fosfatului la 5-fosforibozil-1-pirofosfat (PRPP). Activerea are loc în prezenţa ATP, iar ribozo-5-fosfatul provine din calea pentozofosfaţilor (Fig 13.43).

În prima etapă a căii de sinteză, PRPP reacţionează cu glutamina, reacţia este catalizată de PRPP glutamilamidotransferază ce furnizează atomul de azot 9 al inelului purinic.

Enzima este inhibată de trei produşi ai căii, inozitolmonofosfat (IMP), adenozinmonofosfat (AMP) şi guanozin monofosfat (GMP).

În etapa a doua prin condensarea 5 fosforibozilaminei cu glicina, se introduc atomii de carbon 4 şi 5, precum şi azotul 7 al inelului purinic (Fig 13.43). În reacţiile care urmează, carbonul 8 este furnizat de către metenil tetrahidrofolat, atomul de azot 3 de către glutamină, carbonul 6 de către CO2, azotul 1 de către aspartat şi carbonul 2 de către formil tetrahidrofolat. Primul nucleotid purinic format este IMP, ce serveşte ca punct de ramificaţie către sinteza AMP sau GMP. AMP este derivat din IMP prin adiţia unei grupări amino provenită de la acidul aspartic la carbonul 6 al inelului purinic. GMP este

Scanned with OKEN Scanner

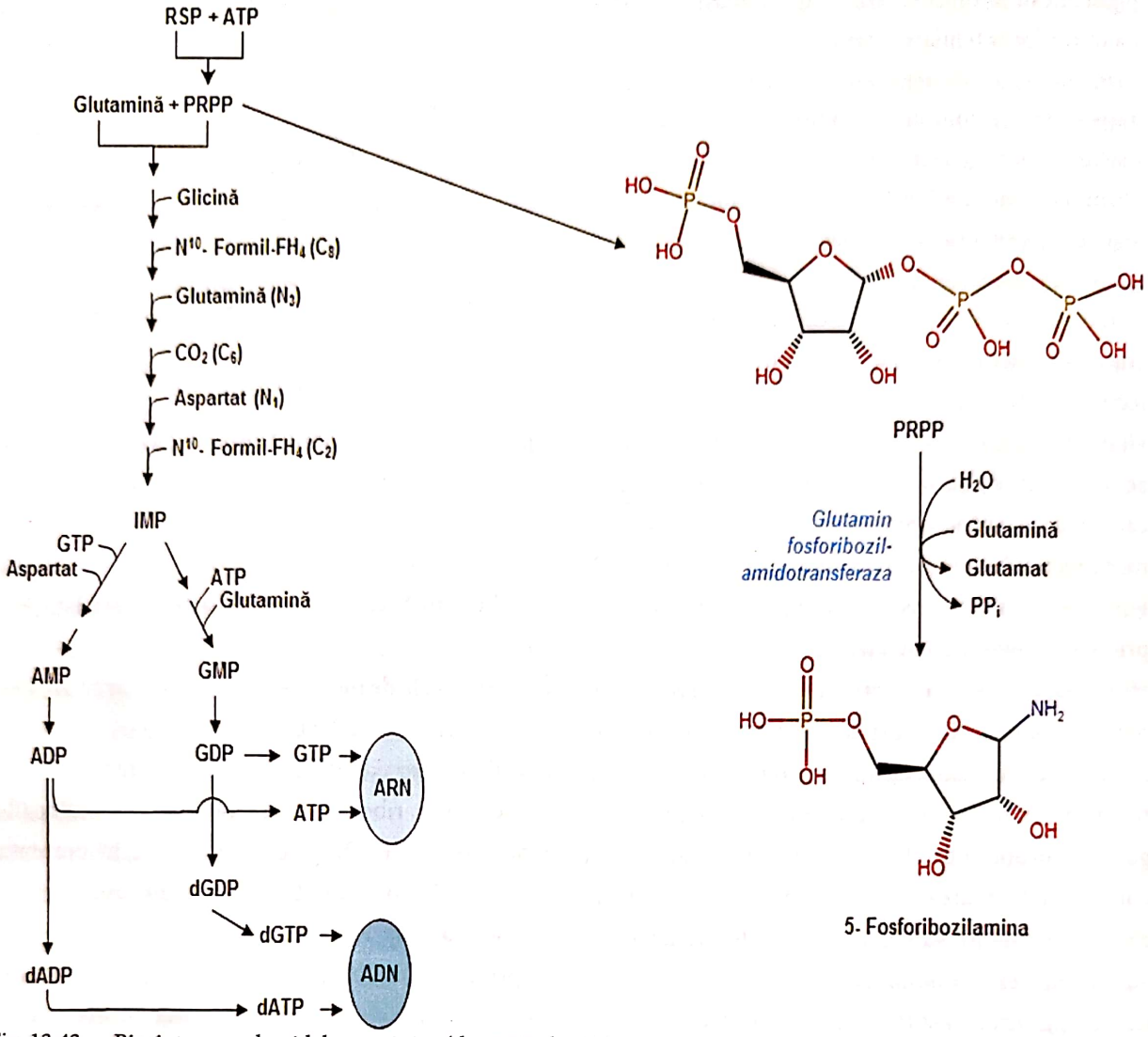


Fig. 13.43. Biosinteza nucleotidelor purinice (după Marks, 2005)

derivat din IMP prin transferul unei grupări amidice de la glutamină. AMP şi GMP pot fi fosforilaţi la trifosfaţii corespunzători şi folosiţi ca sursă de energie pentru celule şi precursori în sinteza ARN. Pentru sinteza ADN, riboza este redusă la deoxiriboză sub acţiunea unei ribonucleotid reductaze.

Catabolismul bazelor purinice

Catabolismul bazelor purinice are loc în ficat. Într-o primă etapă AMP este dezaminat la IMP, IMP şi GMP sunt defosforilaţi, riboza este eliberată cu formarea hipoxantinei (din IMP) şi guaninei (din GMP). Cele două căi de degradare ale adeninei şi guaninei converg întru-un punct comun, formarea xantinei din guanină şi respectiv hipoxantină (Fig 13.44).

Xantina este convertită de către xantinoxidază la acid uric ce este excretat prin urină. Acidul uric este catabolitul final şi forma de eliminare din organism a azotului purinic (Fig 13.44). Acidul uric este un compus greu solubil în apă. Prin urmare, în plasmă şi lichidele interstiţiale acesta se găseşte ca sare monosodică.

Acizii ribonucleici sunt continuu degradaţi în organism, nucleotidele eliberate împreună cu acelea obţinute prin sinteza de novo sau din purinele exogene alcătuiesc un fond metabolic comun. În cadrul acestui fond au loc transformări şi interconversiuni prin care se realizează raportul optim dintre nucleotide în vederea sintezei acizilor nucleici. Excesul de

Scanned with OKEN Scanner

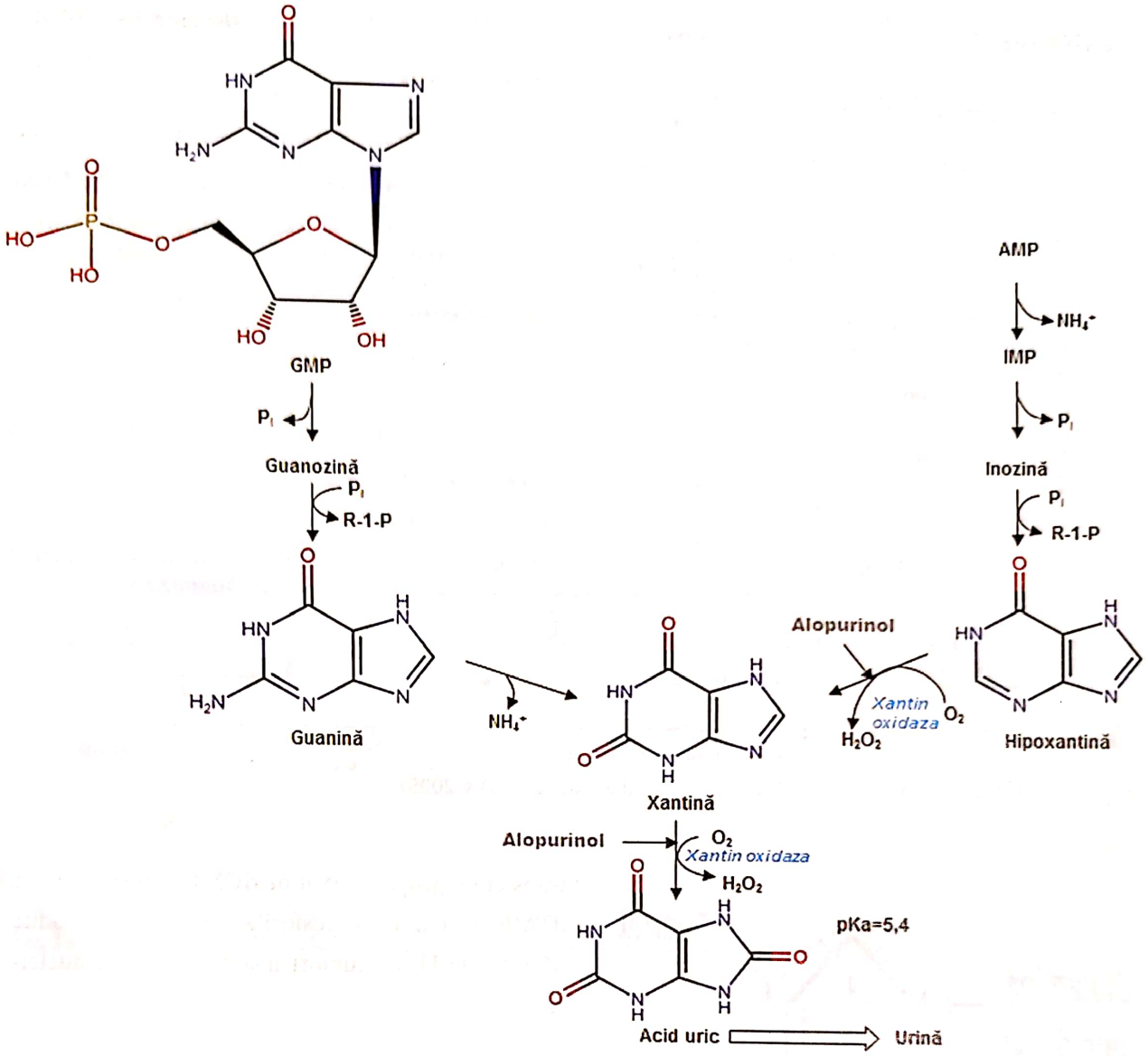


Fig. 13.44. Catabolismul bazelor purinice

nucleotide purinice este transformat în acid uric şi eliminat din organism.

Căi de reutilizare a bazelor purinice (salvage pathway)

În ficat nucleotidele sunt defosforilate la nucleozidele corespunzătoare, unele dintre acestea sunt degradate până la baze azotate libere. Nucleozidele şi bazele azotate libere sunt transportate către alte ţesuturi unde nucleozidele sunt refosforilate la nucleotide iar bazele azotate libere sunt reâncorporate în nucleotide. Se cunosc două căi de reâncorporare a bazelor purinice în nucleotide şi nucleozide:

1. Condensarea bazei purinice cu PRPP şi formarea directă a ribonucleotidului. Reacţia este catalizată de fosforiboziltransferaze specifice fiecărui nucleotid: APRT pentru adenină, HGPRT răspunzătoare de reciclarea guaninei şi hipoxantinei (Fig 13.45).
2. Încorporarea purinei în nucleotid în două etape: în prima etapă se formează nucleozidul corespunzător, în etapa a 2a nucleozidul este fosforilat la nucleotid sub acţiunea nucleozid foforilazei (Fig.13.45).

Sinteza nucleotidelor pirimidinice

Are ca punct de plecare sinteza iniţială a bazei azotate şi apoi ataşarea acesteia la ribozo-5-fosfat.

Bazele pirimidinice sunt sintetizate din precursori simpli, aminoacizi şi CO_2, (Fig. 13.46).

În prima etapă a sintezei glutamina reacţionează cu CO_2 şi ATP pentru a forma carbamilfosfatul. Această reacţie este analoagă primei reacţii din ciclul

Scanned with OKEN Scanner

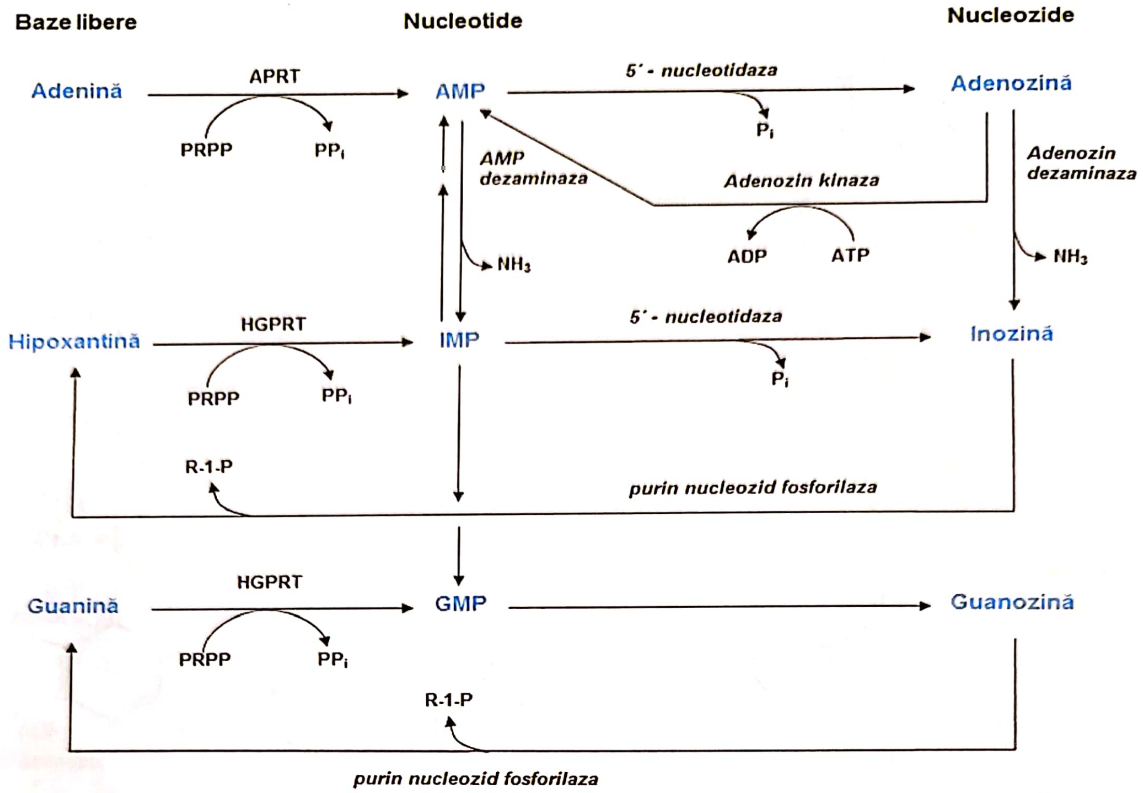


Fig. 13.45. Căile de reutilizare a nucleotidelor purinice (după Marks, 2005)

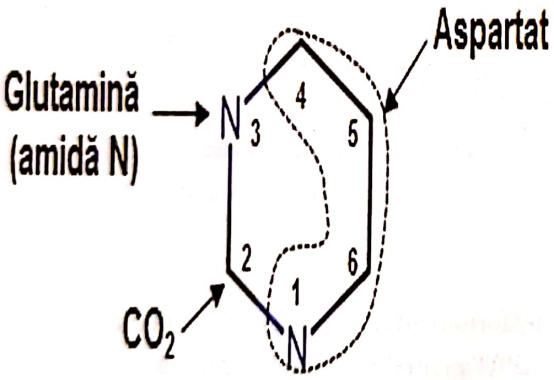


Fig. 13.46. Structura nucleului pirimidinic

ureogenetic cu deosebirea că glutamina este donorul grupării amino, iar reacţia are loc în citosol fiind catalizată de carbamil fosfat sintaza II, ce este inhibată de UTP (unul dintre produşii căii).

Ne reamintim, în ciclul ureogenetic reacţia este catalizată de carbamil fosfat sintaza I, ce este activată de N-acetilglutamat. acizilor nucleici. CTP este defosforilat la CDP, riboza este redusă la deoxiriboză de către ribonucleotid reductază. dCDP este fosforilat şi dezaminat la dUMP, metilen tetrahidrofolatul transferă o grupare metil pe dUMP pentru a forma dTMP. Reacţiile de fosforilare ulterioare produc dCTP şi dTTP, precursori ai sintezei acizilor nucleici.

Degradarea nucleotidelor pirimidinice

Prin degradarea acizilor nucleici rezultă nucleotide pirimidinice. Aceste nucleotide sunt defosforilate, nucleozidele sunt scindate la ribozo-1-fosfat şi baze pirimidinice libere (citozina, uracil şi timina). Orotatul reacţionează cu PRPP, formând orotidine-5-fosfat, ce este apoi decarboxilat la uridinmonofosfat (UMP). UMP este fosforilat apoi la UTP, iar prin adiţia unei grupări amino de la glutamină se formează CTP.

Citozina este dezaminată la uracil, acesta fiind apoi convertit la CO_2, NH_4^+ şi β-alanină. Timina este convertită la CO_2, NH_4^+ şi β-aminoizobutirat.

Produşii de catabolism ai bazelor pirimidinice pot fi excretaţi în urină sau transformaţi în CO_2, H_2O şi amoniac din care se formează apoi uree.

Scanned with OKEN Scanner

Patobiochimia metabolismului purinelor şi pirimidinelor

Guta este o afecţiune caracterizată printr-o producţie crescută de acid uric de cauză genetică sau poate sa apară ca o consecinţă a altor afecţiuni sau terapii (guta secundară). Turnoverul rapid al acizilor nucleici are drept consecinţă hiperuricemia şi precipitarea uratului monosodic în special în jurul articulaţiilor de la extremităţi. Clinic se manifestă prin dureri artritice episodice sau cronice, nefrolitiază şi depozite de acid uric în ţesuturile moi (tofi gutoşi). Hiperuricemiile primare şi secundare sunt corectate prin administrare de alopurinol, compus analog

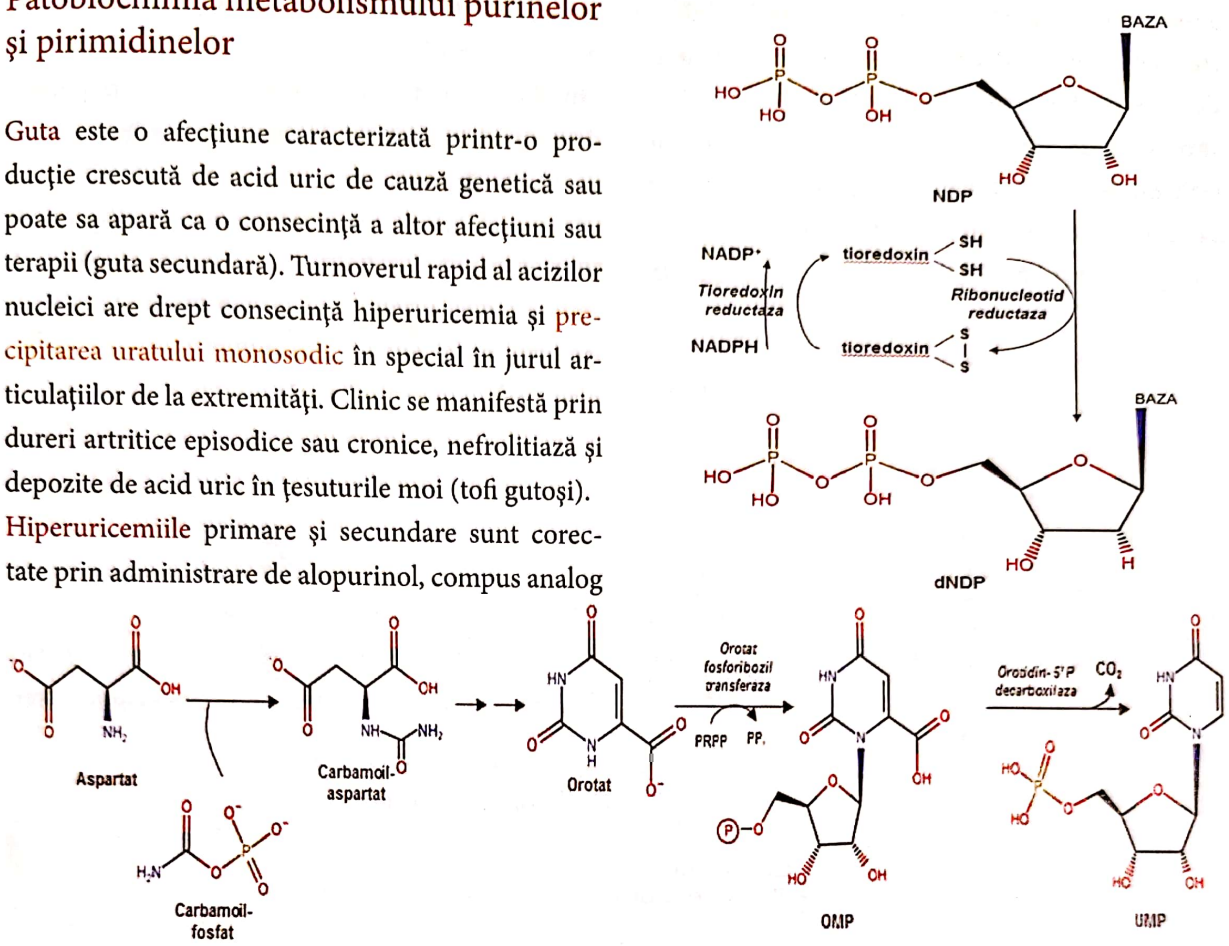


Fig. 13. 47. Sinteza UMP. Deficitul enzimatic din aciduria orotică ereditară (după Marks, 2005)

structural cu hipoxantina ce inhibă xantinoxidaza şi împiedică transformarea hipoxantinei în xantină şi a acesteia din urmă în acid uric.

Sindromul Lesch-Nyhan este caracterizat prin deficitul enzimei hipoxantin guanin-fosforibozil transferaza (HGPRT) ce are drept consecinţă o producţie crescută de acid uric prin blocarea căii de salvare a bazelor purinice. Clinic se caracterizează prin retard mintal, tendinţă la automutilare, manifestări neurologice bizare.

Cel mai bine descris defect al metabolismului pirimidinelor este reprezentat de defecte ale complexului enzimatic ce are drept substrat acidul orotic. Această afecţiune este cunoscută sub denumirea de orotaciduria ereditară, în care se excretă cantităţi mari de acid orotic şi orotidină, bolnavii fiind dependenţi de aportul exogen de pirimidine, (Fig. 13.47.)

Sindromul de proteinurie ereditară şi mecanismele proteinuriei

Formele moştenite de proteinurie cuprind un grup heterogen de boli renale rare, care se manifesta prin disfuncţie glomerulară şi proteinurie. În ciuda rarităţii sindromului de proteinurie ereditară, studii genetice, biochimice şi structurale ale acestor boli au contribuit semnificativ la cunoştinţele noastre despre funcţionarea normală a filtrării glomerulare şi despre mecanismele proteinuriei. Evoluţia acestor boli poate varia. Unii pacienţi prezintă proteinurie severă şi sindrom nefrotic congenital, în timp ce alţii au doar proteinurie moderată şi glomeruloscleroză focală segmentată. Indiferent de cauză, boala evoluează adesea înspre stadiul terminal. A fost dificilă o clasificare a acestor sindroame, din cauza faptului că vârsta la debut şi manifestările clinice variază, dar, în

Scanned with OKEN Scanner

ultimii ani, s-au făcut progrese considerabile în ceea ce priveşte determinarea cauzelor genetice ale acestor boli. Din punct de vedere clinic, e important de înţeles faptul că mutaţii la nivelul aceleiaşi gene se pot manifesta diferit în diferite fenotipuri. De exemplu, mutaţii la nivelul aceleiaşi gene poate duce fie la sindrom nefrotic congenital, fie la glomeruloscleroză focală segmentală. Aşadar, ne vom referi la aceste boli ca fiind sindroame de proteinurie ereditară. De asemenea, este important de reţinut că unele sindroame de proteinurie ereditară răspund la terapie, în timp ce altele nu. Din acest motiv, testarea genetică, disponibilă pentru anumite sindroame de proteinurie ereditară,

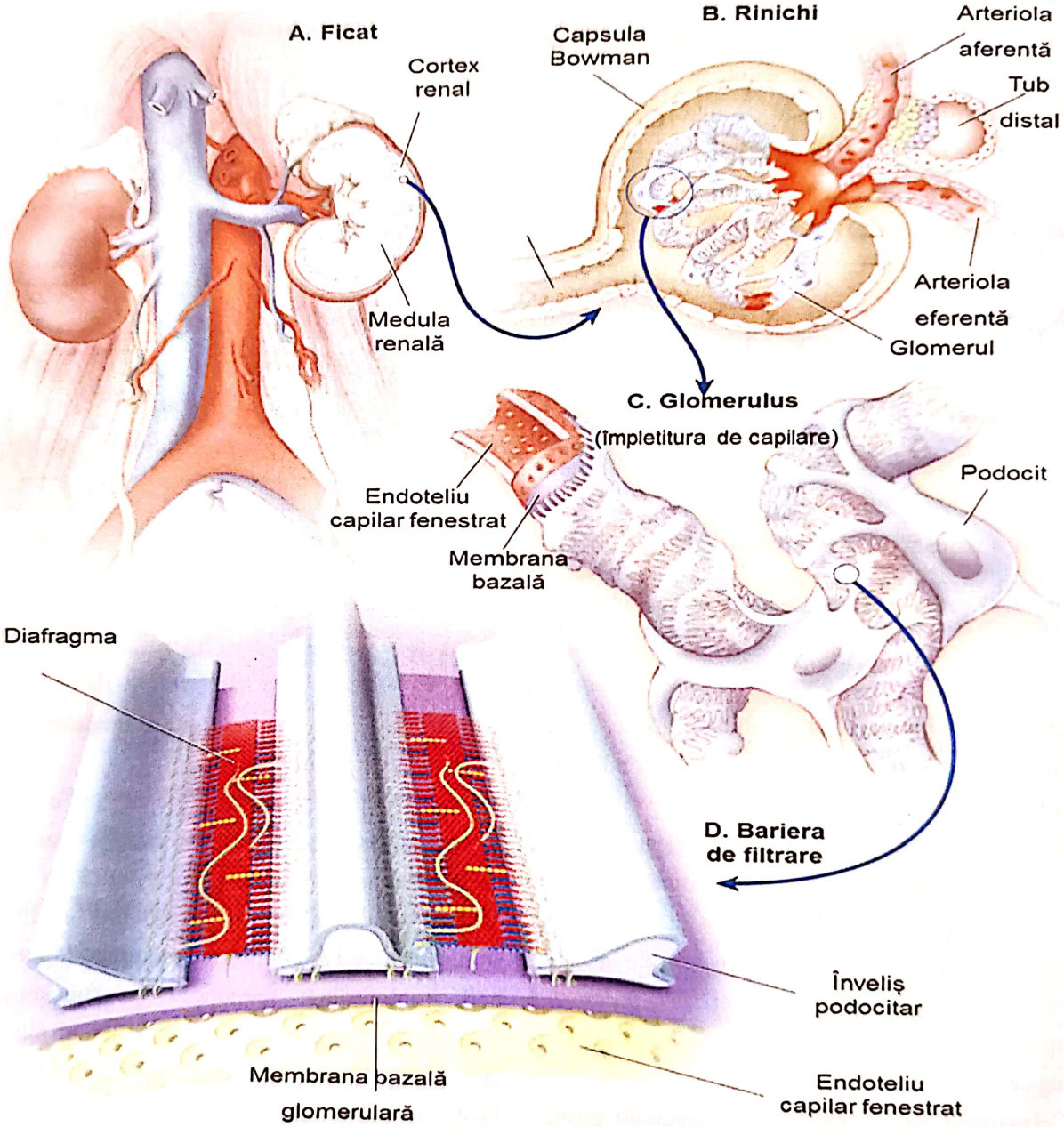


Fig. 13.48. Sistemul filtrării glomerulare; În cortexul renal al fiecărui rinichi se găsesc aproximativ 1 milion de glomeruli (A). O arteriolă aferentă care intră în capsula lui Bowman se ramifică în capilare care formează unitatea filtrantă din pereţii capilarelor (B). Filtratul plasmatic (urina primară) este direcţionată spre tubul proximal unde sângele nefiltrat se întoarce în circulaţie prin arteriola eferentă. Bariera de filtrare a peretelui capilar conţine un endoteliu fenestrat, membrana glomerulară bazală şi un strat de podocite interdigitale (C). O secţiune transversală prin capi-larul glomerular, indică stratul endotelial fenestrat şi membrana glomerulară bazală cu podocitele suprapuse. O fantă ultrasubţire a diafragmei include fanta de filtrare dintre podocite, imediat deasupra membranei bazale (D). Pentru a prezenta fanta diafragmei, podocitele sunt arătate mai mici decât sunt în realitate (Tryggvason et al., N Engl J Med 2006;354:1387-401).

Scanned with OKEN Scanner

ar trebui efectuată de fiecare dată când este posibil. Cunoştinţele despre mecanismele filtrării glomerulare şi proteinurie sunt încă limitate, dar acest domeniu este subiectul unor cercetări intense.

Bariera filtrării glomerulare

Principalele cauze ale sindroamelor de proteinurie ereditară sunt reprezentate de defecte ale barierei de filtrare glomerulară în cortexul renal. (Fig 13.48. A şi B) Această barieră are 3 straturi: endoteliul fenestrat, membrana glomerulară bazală şi podocitele, împreună cu o diafragma fenestrată formată de extensiile citoplasmatice podocitare (fig 1C şi 1D). Se consideră că bariera de filtrare este selectivă în funcţie de dimensiunea şi sarcina particulelor care sunt filtrate, dar mecanismele moleculare ce stau la baza funcţionării sale sunt încă necunoscute (Fig. 13.49).

Analiza mai multor boli genetice rare cu proteinurie marcată a dus la identificarea proteinelor necesare pentru dezvoltarea şi funcţionarea barierei filtrării glomerulare. În mod particular, noile date privind aceste sindroame au contribuit la o mai bună înţelegere a structurii moleculare a fantei diafragmei podocitare.

Progresul în domeniu a facilitat de asemenea clasificarea sindroamelor de proteinurie ereditară, care pot varia considerabil în funcţie de vârsta la debut şi manifestări. Din punct de vedere clinic, e important de înţeles faptul că mutaţii la nivelul aceleiaşi gene se pot manifesta diferit în diferite fenotipuri. Din acest motiv, dacă e posibil, pacienţii având aceste sindroame ar trebui să efectueze teste genetice.

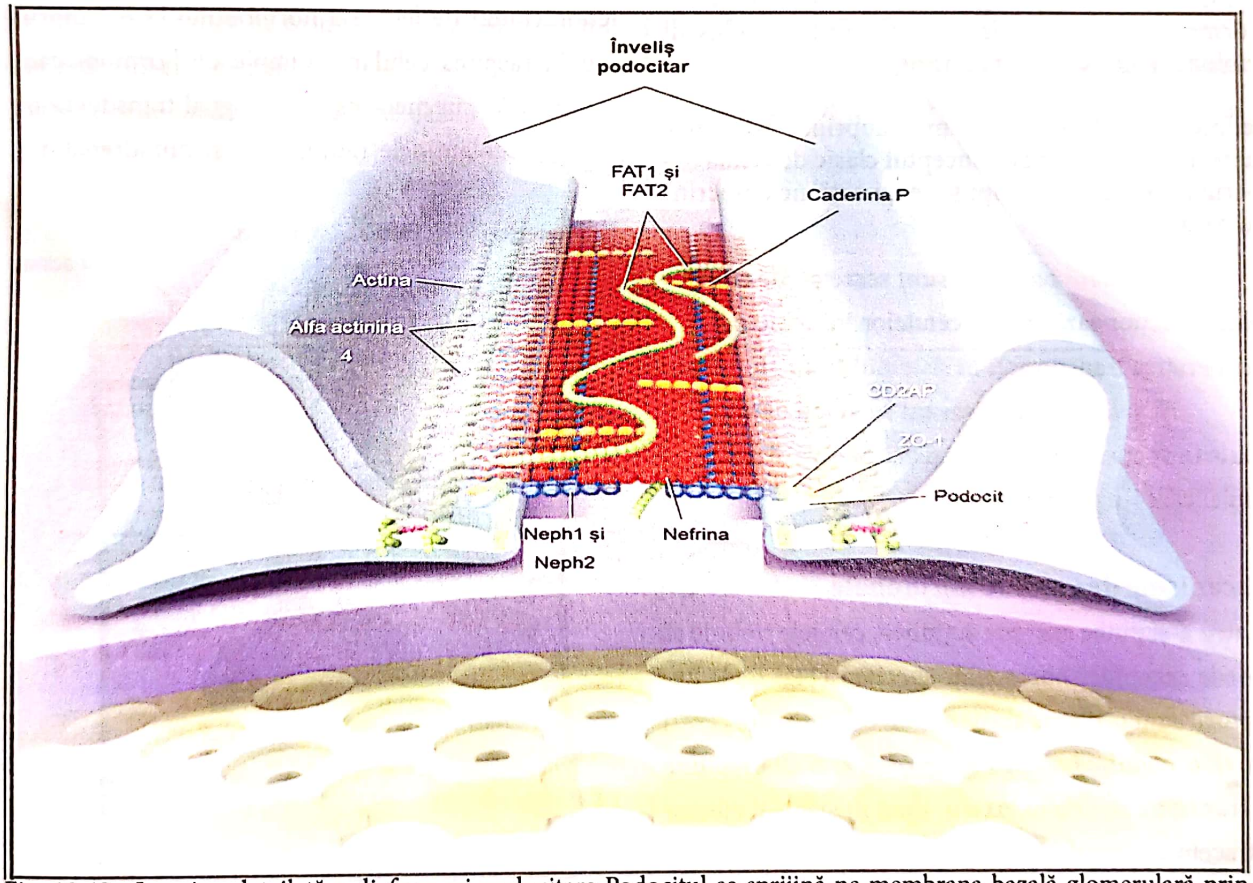


Fig. 13.49. Imagine detailată a diafragmei podocitare Podocitul se sprijină pe membrana bazală glomerulară prin extremitatea pedicelelor. Spaţiul dintre pedicelele adiacente este numit fantă de filtrare(„slit pore") şi este obturat de o membrană subţire numită diafragmă. Aceasta conţine o proteină (nefrina) care constituie elementul cheie în bariera de filtrare. Moleculele de nefrină interacţionează între ele la nivelul diafragmei şi formează o structură poroasă cu grosime de aproximativ 40 nm. Nefrina interacţionează şi cu alte celule de la nivelul diafragmei precum FAT1 şi FAT2, molecule mici Neph1 si Neph 2. Nefrina şi molecule Neph interacţionează cu podocitele intracelulare şi proteina CD2 asiociată (CD2AP) care conectează diafragma cu ZO-1 şi resturile de actină. Resturile de actina sunt legate de alfa actinina 4. Rolul concret al caterinei P este încă necunoscut. Procesele pediculate au la suprafaţa lor un înveliş cu rol important în menţinerea structurii şi funcţiei normale a barierei de filtrare.

Scanned with OKEN Scanner

14. HORMONI ŞI CĂI DE SEMNALIZARE

Unii hormoni pot funcţiona ca hormoni endocrini faţă de un ţesut ţintă şi ca hormoni paracrini faţă de alte celule. Un exemplu îl constituie somatostatina hipotalamică ce este hormon endocrin pentru adenohipofiză şi somatostatina pancreatică produsă de celulele D este hormon paracrin ce actionează asupra celulelor A şi B care secretă insulina şi glucagonul). În funcţie de natura lor hormonii se încadrează în mai multe clase: hormoni derivaţi de la peptide, hormoni steroidici sau derivati din aminoacizi. Hormonii derivaţi de la tirozină sunt: catecolaminele (adrenalina, noradrenalina) şi hormonii tiroidieni (T3, T4). Unii hormoni sunt complexe glicoproteice: tyroid stimulating hormone (TSH) şi gonadotropinele (LH şi FSH). Hormonii steroidici controlează metabolisme, inflamatia, raspunsul imun, homeostazia apei, dezvoltarea şi maturizarea sexuală şi controlează reacţia la stres.

Introducere

Hormonii sunt substanţe produse şi secretate de către *celulele endocrine* în circulaţia sanguină, fiind transportaţi la celulele ţintă ce sunt capabile să răspundă la mesajul hormonal prin modificarea funcţiei.
Termenul de hormon provine din limba greaca (horman: excitator, cauzator) si a fost introdus de fiziologul englez, Ernest Starling).

Definiţia completă unui hormon cuprinde astăzi mai multe aspecte, pe lângă conceptul clasic de celulă endocrină, ea include compuşi ce au acţiune autocrină sau paracrină.

- *Hormonii paracrini* sunt secretaţi de către celule şi acţionează asupra celulelor învecinate fără a fi eliberaţi şi transportaţi în sistemul circulator.
- *Hormonii autocrini* sunt secretaţi de către celule în spaţiul extracelular şi acţionează asupra celulei care i-a produs.

Mecanisme de acţiune hormonale

Pentru a-şi putea exercita acţiunea, celulele trebuie să posede receptori hormonali specifici (Fig. 6.1). Receptorii sunt proteine alosterice cu cel puţin doi centri activi: o regiune ce leagă hormonul şi o altă regiune ce transmite semnalul extern, unui mecanism efector intracelular, care îl transformă în răspuns celular. Cele două situsuri active comunică între ele prin tranziţii conformaţionale iniţiate de fixarea hormonului la situsul de legare.
Unele categorii de hormoni acţionează printr-un mecanism de semnalizare celulară („*signal transduction*"), în care hormonul (mesager primar) se leagă de receptorii localizaţi pe suprafaţa celulară şi determină formarea unui compus intracelular precum *AMPc*, *inozitoltrifosfat* (IP3), *fosfolipaza C*, mesageri secunzi ce au ca rezultat transformarea fenomenului de legare a hormonului la receptorul său în răspuns celular. Exemple de hormoni care acţionează prin mecanism de „signal transduction" sunt: catecolaminele (adrenalina şi noradrenalina)

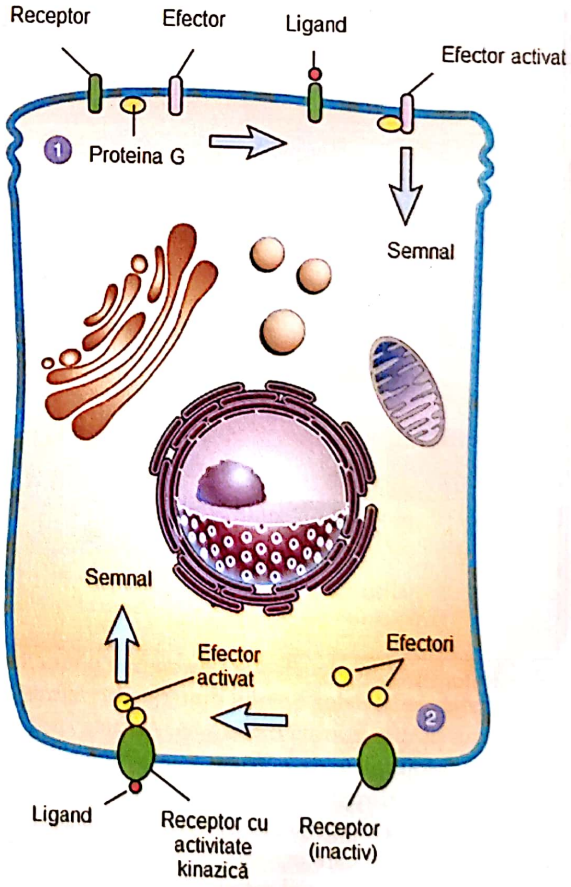


Fig. 14.1. Mecanisme de semnalizare celulară

Scanned with OKEN Scanner

și hormonii pancreatici (insulina și glucagonul).

O altă categorie de hormoni își exercită acțiunea prin legarea la receptori localizați în interiorul celulei, complexul hormon-receptor format în interiorul celulei se leagă de HRE (*hormon response el ement*) din structura ADN inducând astfel sinteza ARNm specific și în consecință, a proteinelor pe care acesta le codifică determinând schimbări în funcția celulară, diferențiere și creștere. Din această categorie fac parte: hormonii steroizi, hormonii tiroidieni, acidul retinoic, formele active ale vitaminei D3.

Ionii de calciu mediază efectele intracelulare ale hormonilor fiind modulatori ai proceselor metabolice fundamentale.

Legarea hormonului la receptorul său determină o creștere a concentrației de calciu în citoplasmă fie prin pătrunderea acestuia din spațiul extracelular în interiorul celulei, fie prin stimularea eliberării lui din reticulul endoplasmic.

Răspunsurile mediate de ionii de calciu sunt foarte rapide și de scurtă durată. Acesta acționează independent sau împreună cu AMPc, GMPc, DAG și IP3. (Fig. 6.2 și Fig. 6.3).

Rolul reglator al calciului este dependent de proteine specifice de legare, dintre care face parte și calmodulina.

Legarea calciului în concentrație mare intracelular, la calmodulină determină o schimbare conformațională a acesteia fiind aptă să lege o proteină țintă blocându-i astfel activitatea.

Când concentrația calciului scade, calmodulina eliberează ionii de calciu și revine la conformația anterioară, eliberând totodată și proteina țintă.

Hormoni pancreatici

Mecanismul de semnalizare al insulinei

Insulina este un hormon eliberat de celulele beta pancreatice ca raspuns la nivele ridicate a substanțelor nutritive în sânge. Insulina declanșează captarea glucozei, acizilor grași și a aminoacizilor la nivelul

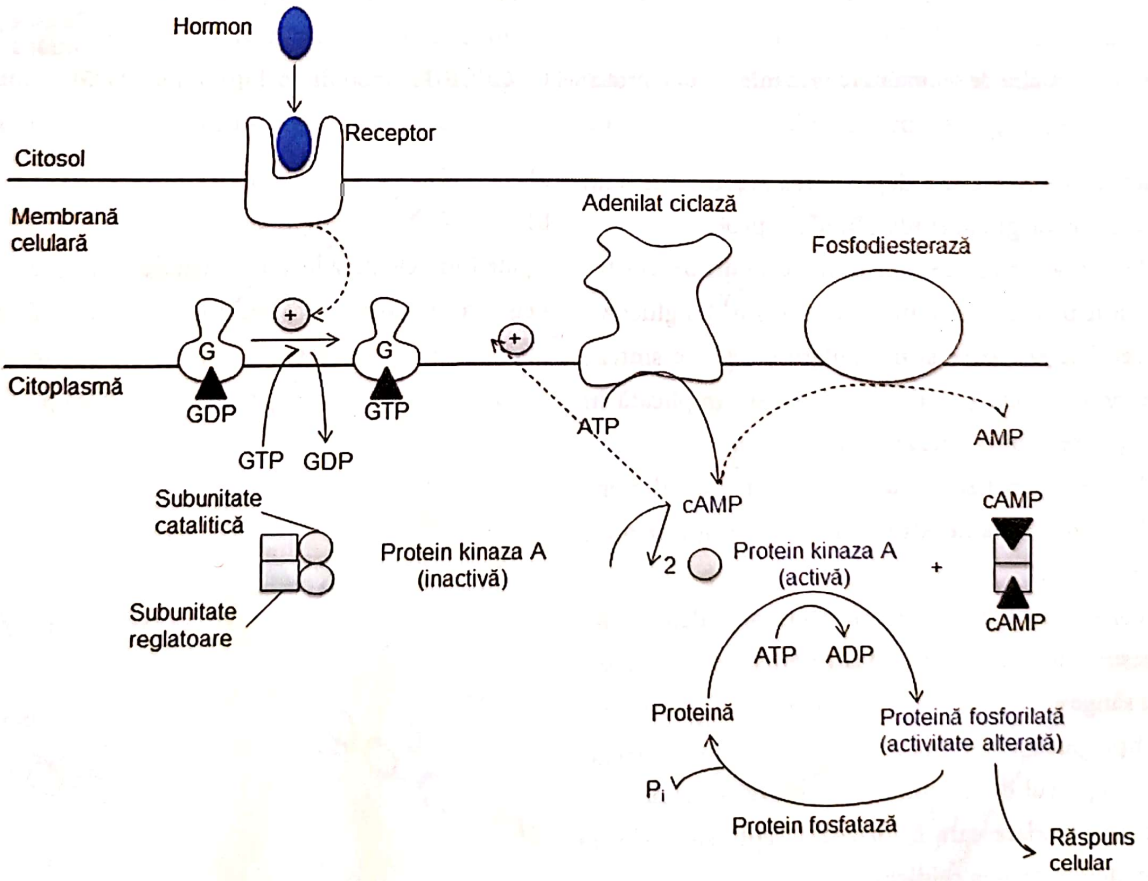


Fig. 14.2. Calea de semnalizare prin intermediul proteinei G și a AMPc (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

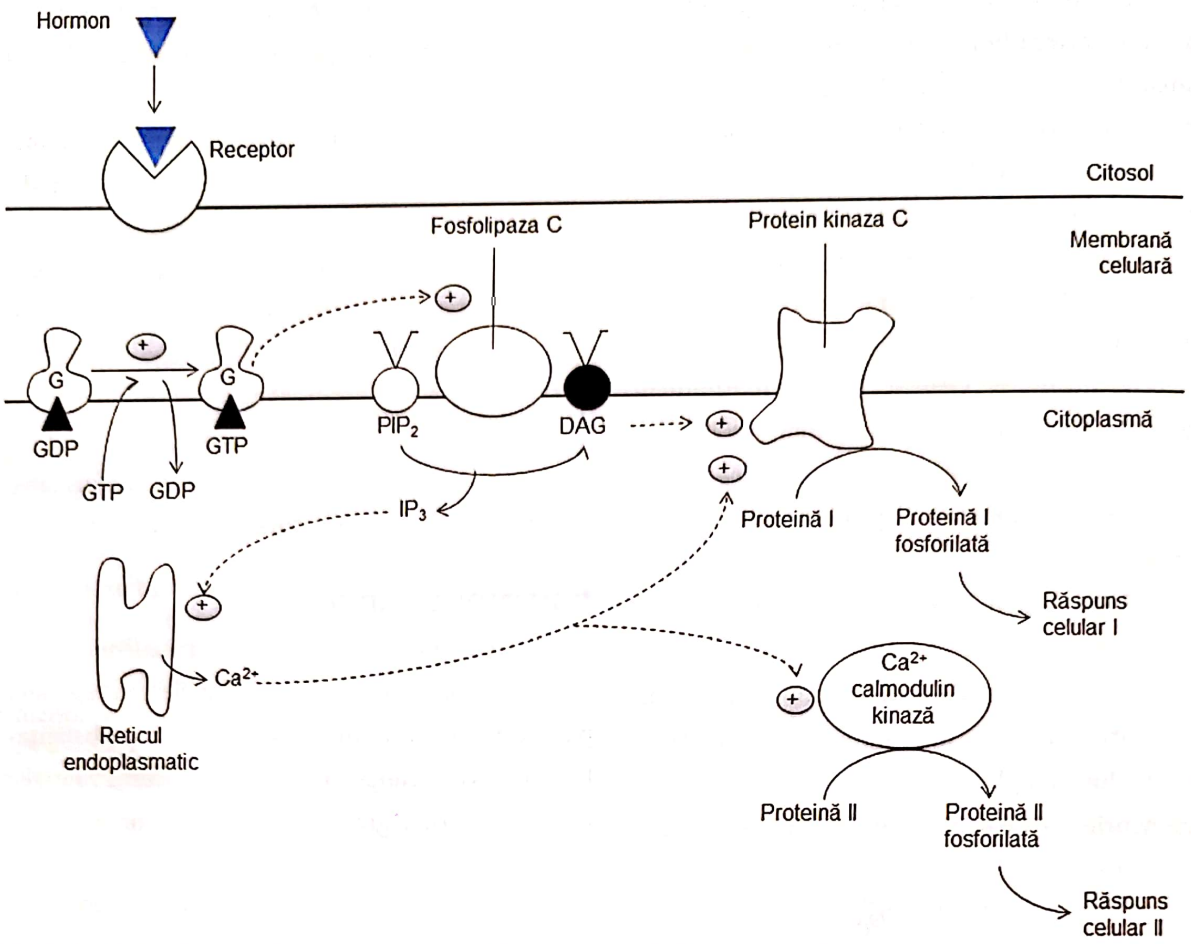


Fig. 14.3. Calea de semnalizare prin intermediul proteinei G, Ca^{2+}, PIP2 (modificată după Marks, 2005)

ficatului şi favorizează depozitarea acestor nutrienţi sub forma de glicogenului, lipide şi proteine.

Calea de semnalizare a insulinei este un proces biochimic prin care insulina creşte absorbţia glucozei în celulele adipoase şi musculare şi reduce sinteza glucozei în ficat şi, prin urmare, este implicată în menţinerea homeostaziei glucozei.

Calea de semnalizare este influenţată şi de alimentaţie, stare de foame, stres şi secreţia altor hormoni în organism.

La consumarea, digestia şi absorbţia glucidelor, pancreasul detectează creşterea concentraţiei de glucoză din sânge şi eliberează insulina pentru a favoriza absorbţia glucozei din fluxul sanguin. Insulina se leagă de receptorul de insulină şi activează o cascadă de procese celulare care favorizează captarea glucozei prin depolarizarea celulelor

Receptorul insulinei este un receptor de tip tirozin kinazic si este compus din:

a) *două subunităţi alfa extracelulare*

b) *două subunităţi beta transmembranale*

legate între ele prin legături disulfidice (Fig 6.4).

Legarea insulinei la subunitatea α induce o modificare conformaţională şi autofosforilarea unor resturi de tirozină prezente în subunitatea β.

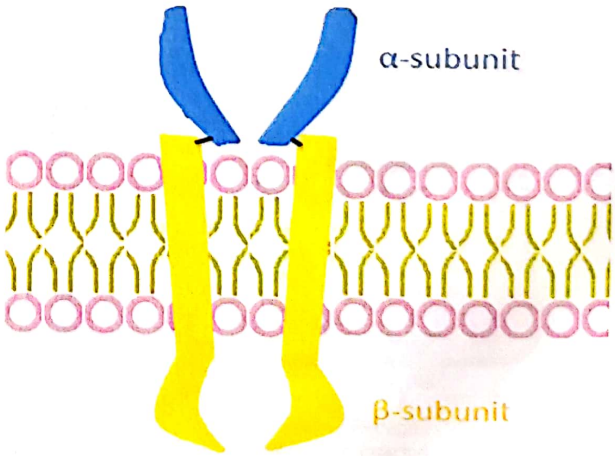


Fig. 14.4. Structura receptorului insulinic

Scanned with OKEN Scanner

Transportorii glucozei de tip 4 (GLUT4) sunt eliberați la suprafața celulei pentru a regla transportul glucozei. Odată cu exprimarea GLUT4 pe suprafața celulei, concentrația glucozei în celule crește si, prin urmare, concentrația glucozei din sânge scade. (Fig. 6.5)

Calea de semnalizare este influențată și de alimentație, stare de foame, stres și secreția altor hormoni în organism.

Legarea insulinei de receptorul său declanșează o cascadă de evenimente celulare (de ex. autofosforilarea) care, în final determină efecte biologice multiple și diverse. Există, de asemenea, un mecanism de control a secreției de insulină, realizat prin trade-off cu glucagonul și adrenalina, care determina reglarea nivelului glucozei în sânge (homeostazia glucozei).

Înțelegerea acestor procese biochimice este extrem de importantă pentru înțelegerea unor tulburări din organism, cum ar fi diabetul zaharat, hiperglicemia și hipoglicemia.

Defectele în procesele de captare și depozitare a substanțelor nutritive sunt responsabile de afecțiunea numită diabet zaharat. Diabetul zaharat de tip 1 (insulino-dependent) apare când pancreasul secretă cantități insuficiente de insulină iar în diabetul zaharat de tip 2 (non insulino-dependent) organismul devine rezistent la efectele insulinei datorită defectelor în caile de semnalizare.

Efecte pozitive ale insulinei

Secreția insulinei produce un mecanism de *feedback pozitiv* în organism prin diferite procese:

a) Cresterea nivelului de insulină în sânge duce la creșterea absorbției glucozei din sânge prin translocarea și exocitoza de vezicule de depozitare a transporturului de glucoza, GLUT4 în celulele musculare și adipoase,

b) Insulina promovează transformarea glucozei în trigliceride la nivelul celulelelor hepatice, adipoase și musculare.

c) Insulina favorizează glicoliza

Un exemplu de mecanism de feedback pozitiv este activarea unor enzime în calea de semnalizare a insulinei, care încetinesc/opresc calea de transducție și astfel favorizează aportul de glucoză. Enzima *fosfatidilinozitol 3 kinaza* (PI-3 K) este o *enzimă cheie* în semnalizarea insulinei. Stimularea căii de semnalizare PI-3 kinazei activează glicogenul, sin-

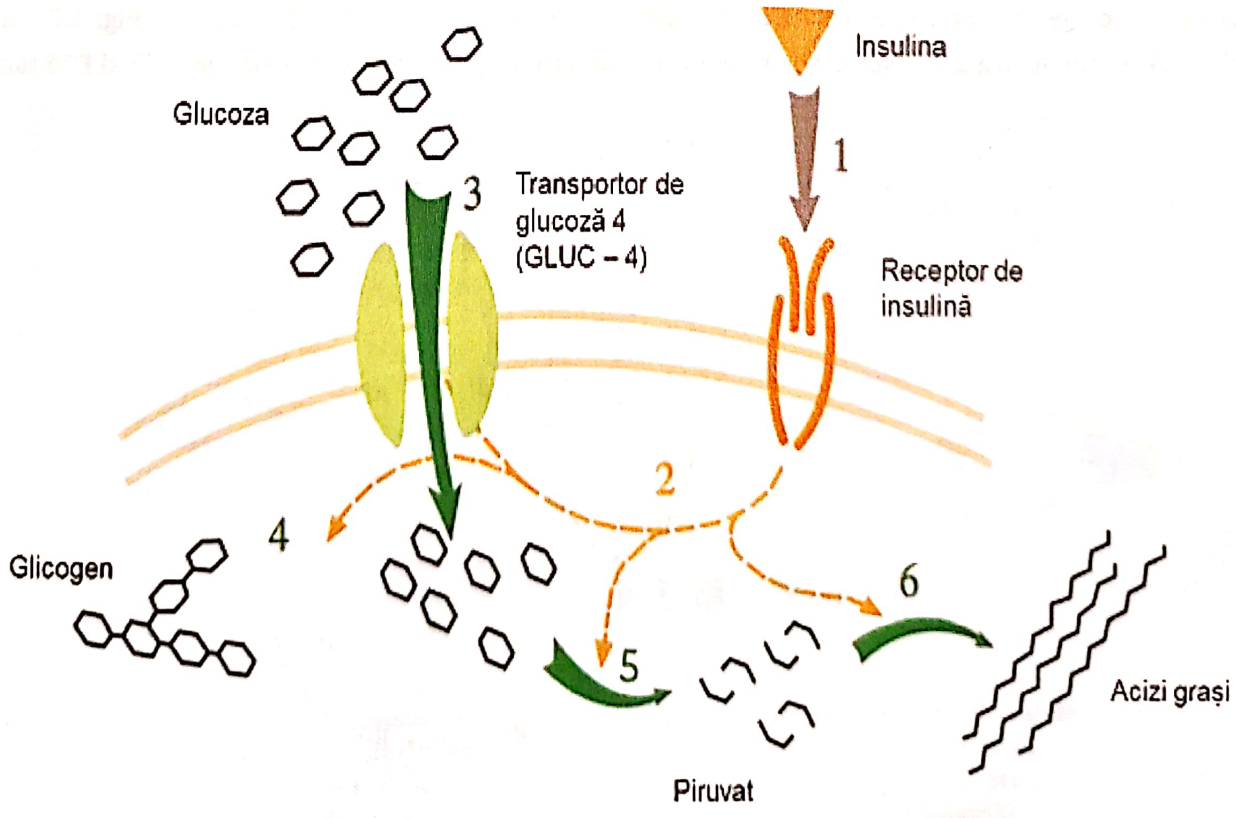


Fig. 14.5. Efectul insulinei asupra metabolismului glucidic și lipidic

Scanned with OKEN Scanner

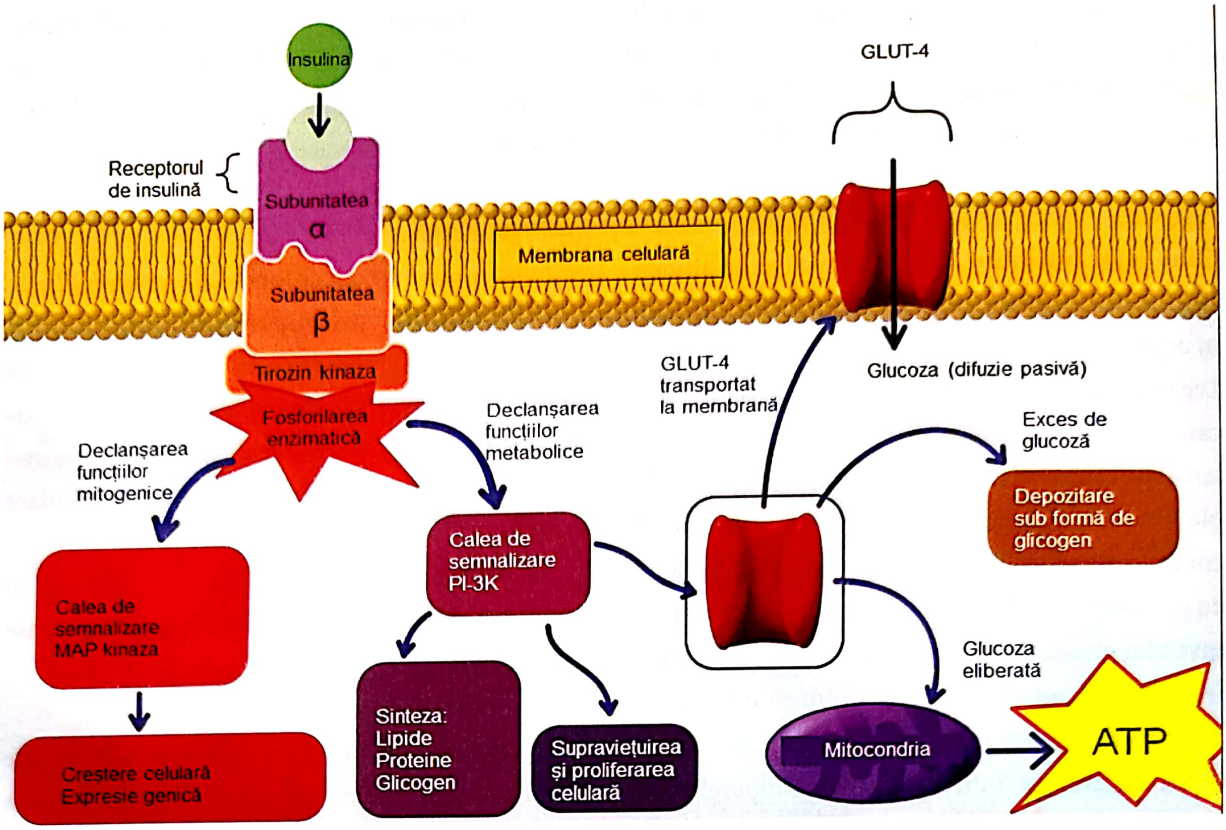


Fig. 14.6. Calea de semnalizare a insulinei

teza lipidelor și proteinelor și expresia genică a unor proteine specifice care favorizează captarea glucozei (Fig. 14.6).

Această cale de semnalizare este reglată de diferite enzime. De exemplu, legarea insulinei de receptorul său, activează sinteza glicogenului prin inhibarea enzimelor care încetinesc calea PI-3-K, și produc un *mecanism de feedback negativ* prin activarea căii glicogen sintetaz-kinazei 3 (GSK-3), (Fig. 6.7). În același timp sunt activate enzimele AKT și P70 care

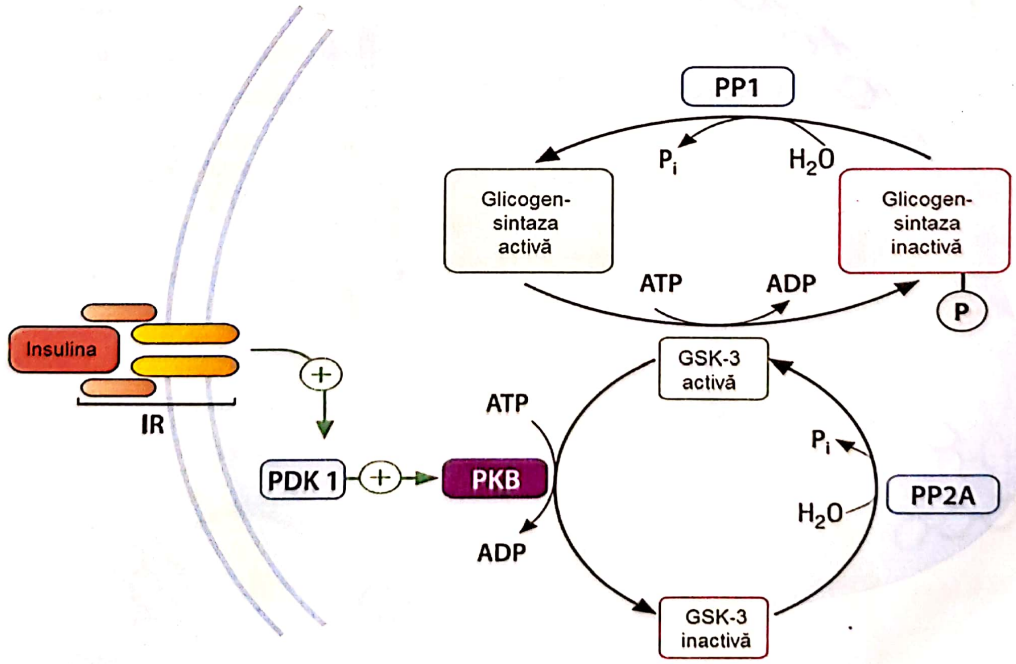


Fig. 14.7. Mecanismul de activare al căii GSK-3 prin intermediul insulinei; PDK1 : fosfo-inozitol kinaza dependentă; PKB: protein kinaza b; PP1: protein fosfataza 1; PP2A: protein fosfataza 2 (modificat după Petrides, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

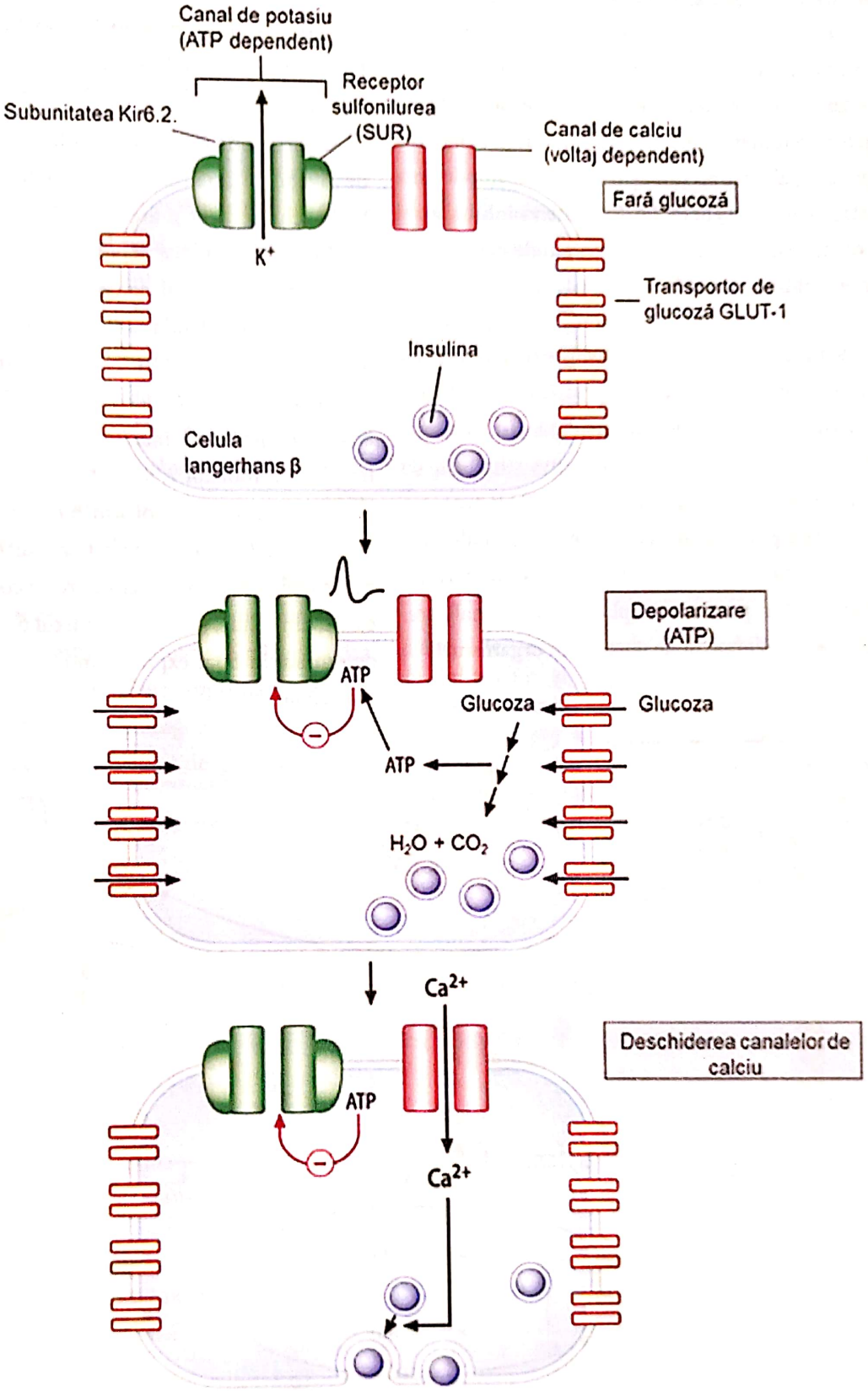


Fig. 14.8. Secreţia insulinei; Concentraţia crescută de calciu extracelular măreşte raportul de ATP/ADP de la nivelul celulelor beta Langerhans şi semnalizează blocarea canalelor de potasiu. Depolarizarea membranei celulare deschide canalele de calciu voltaj dependente şi creşte concentraţia calciului citosolic. Secreţia de insulină este declanşată şi se stimulează deschiderea canalelor de potasiu prin intermediul subunităţiilor Kir6.2 şi SUR (modificat după Petrides, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

determina un feedback pozitiv.

Efecte negative ale insulinei in organism

Mecanismele de feedback negativ declanșate prin legarea insulinei la receptorul său, inhibă eliberarea și producția glucozei din celule, procese importante pentru reducerea glicemiei. Insulina va inhiba astfel și enzimele care favorizează procesul de degradare a glicogenului în glucoză.

Un exemplu de feedback negativ este încetinirea sau oprirea aportului de glucoză prin inhibarea fosforilarii tirozinei stimulată de insulină. Enzima care dezactivează sau fosforilează tirozina stimulată de insulină se numește *tirozin fosfataza* (PTP-aza).
Atunci când este activată, această enzimă catalizează defosforilarea receptorilor de insulina și nu permite activarea altor proteine implicate în semnalizare, astfel reducand aportul de glucoză în organism.

Reglarea secreției de insulina în sânge

Secreția insulinei este realizează de celulele beta pancreatice din insulele Langerhans în două moduri diferite:
(i) eliberarea de insulină se realizează lent indiferent de nivelul de glucoza din sânge. Glucoza este captată de celulele beta și are loc glicoliza, cu eliberarea de ATP, care produce depolarizarea membranei celulelor beta. Procesul de depolarizare cauzează deschiderea controlată a canalelor de calciu (Ca^{2+}) și pătrunderea calciului în celule. Un nivel crescut de calciu determină activarea *fosfolipazei C*, care scindează *fosfatidil inozitol 4* în *1-inozitol* și *diacilglicerol*. Inozitol 1, 4, 5 - trifosfat (IP3) se leagă de receptorii proteinelor din membrana reticulului endplasmic (ER) eliberarând calciul prin intermediul canalelor IP3 și astfel va crește concentrația de calciu din celule, (Fig 6.8.). Afluxul de ioni de calciu determină în final exportul moleculele de insulină din celulă.

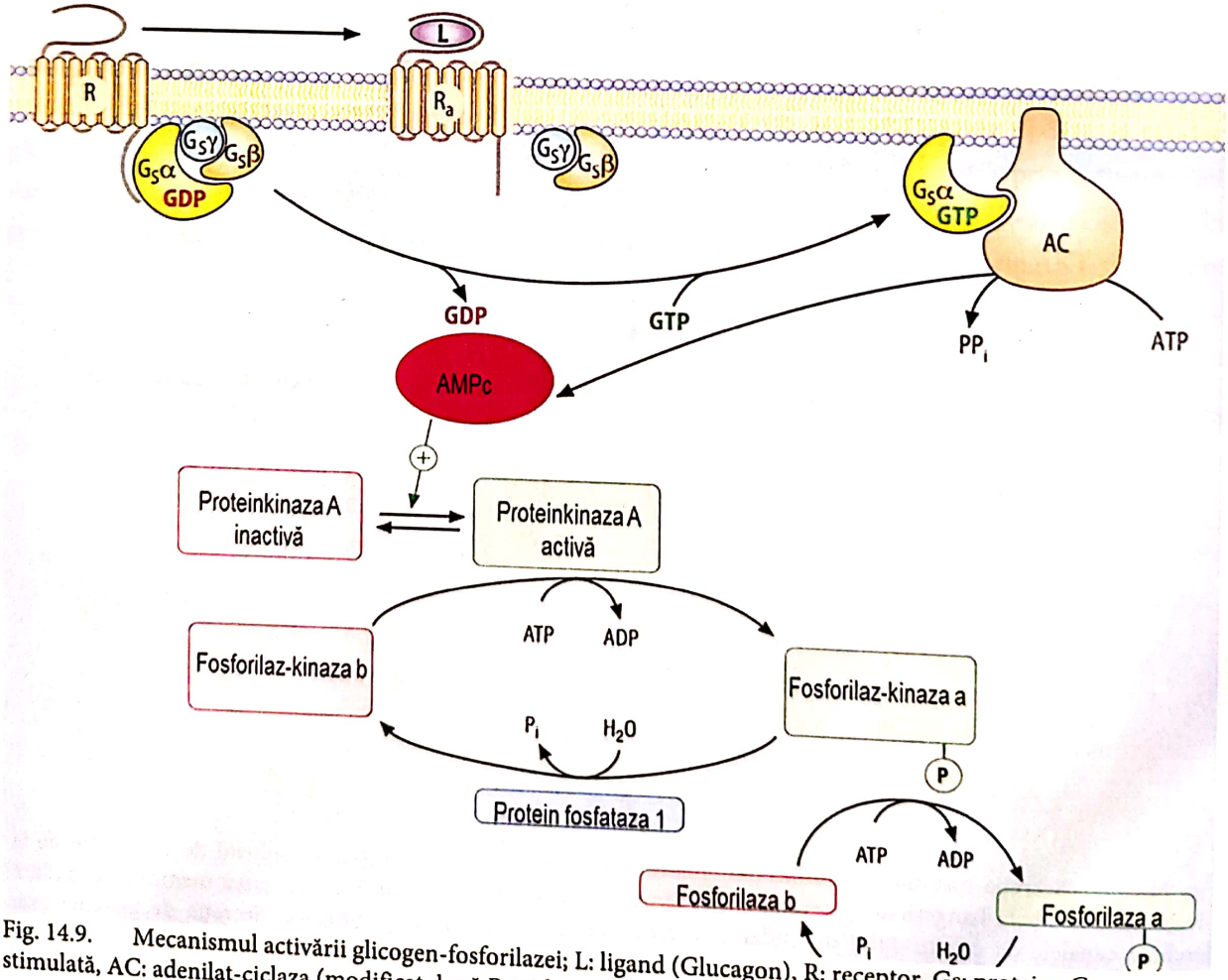


Fig. 14.9. Mecanismul activării glicogen-fosforilazei; L: ligand (Glucagon), R: receptor, Gs: proteina G stimulată, AC: adenilat-ciclaza (modificat după Petrides, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

(ii) eliberarea de insulină se realizează rapid atunci când nivelul de glucoză din sânge este crescut.

Reglarea glicemiei de către glucagon

În timp ce insulina este secretată de pancreas cu scopul de a reduce nivelului de glucoză din sânge, glucagonul are rolul de a restabili echilibrul glicemic. Acesta este motivul pentru care glucagonul a fost cunoscut de zeci de ani ca un hormon hiperglicemiant. Spre deosebire de insulină, care este produsă de celule beta pancreatice, glucagonul este secretat la nivelul celulor alfa pancreatice.

Când nivelul glucozei din sânge este mic, pancreasul secretă glucagon, care, la rândul său, determină în ficat conversia glicogenului în monomeri de glucoză, eliberând glucoză în sânge. Acest proces este numit *glicogenoliza*. Celulele hepatice, sau hepatocite, au receptori specifici care permit legarea glucagonului și astfel stimulează glicogenoliza, (Fig. 14.9). Creșterea insulinei suprimă secreția de glucagon, iar secreția de glucagon este stimulată de scădere insulinei și a nivelului de glucoză în sânge (Fig. 14.10).

Cai de semnalizare implicate in activarea angiogenezei în timpul inflamației cronice

În timpul inflamației cronice mai multe mecanisme activează procesul de angiogeneză. Infiltrarea celulelor imune și proliferarea fibroblastelor conduc la creșterea populațiilor celulare și hipoxia micromediului. Prin hipoxie mai multe tipuri de celule din țesutul inflamat produc factori proangiogenici cum ar fi factori de creștere și enzime de remodelare a matricei extracelulare. Legarea mediatorilor proinflamatori, cum ar fi citokinele și chemokinele, de receptorii de suprafață celulară activează căile de semnalizare intracelulare care pot avea efecte proangiogenice, conducând la o intensificare a neovascularizației și inflamației(Fig. 14.11 si Fig. 14.12).

Căile de semnalizare intracelulare implicate în inflamație și angiogeneză sunt activate prin receptori diferiți la nivelul membranei celulare. Proteinele, cum ar fi factorul asociat receptorului TNF (TRAF), kinaza de adeziune focală (FAK) și kinazele Src interacționează cu acești receptori

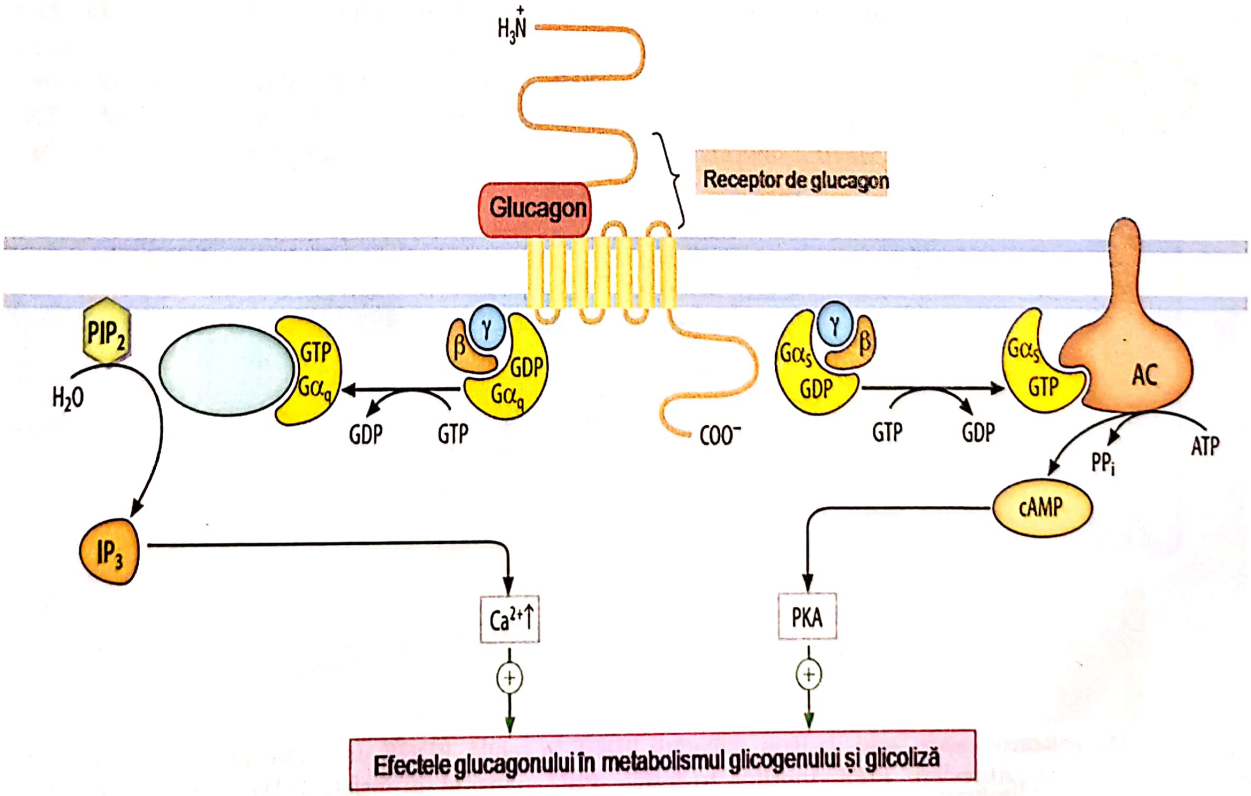


Fig. 14.10. Semnalizarea prin intermediul receptorului de glucagon; Gs: proteina G, AC: adenilat ciclaza, IP3: 1,4,5 inozitol trifosfat, PIP2: Fosfatidilinositol 4,5 bifosfat (modificat după Petrides, 2014)

Scanned with OKEN Scanner

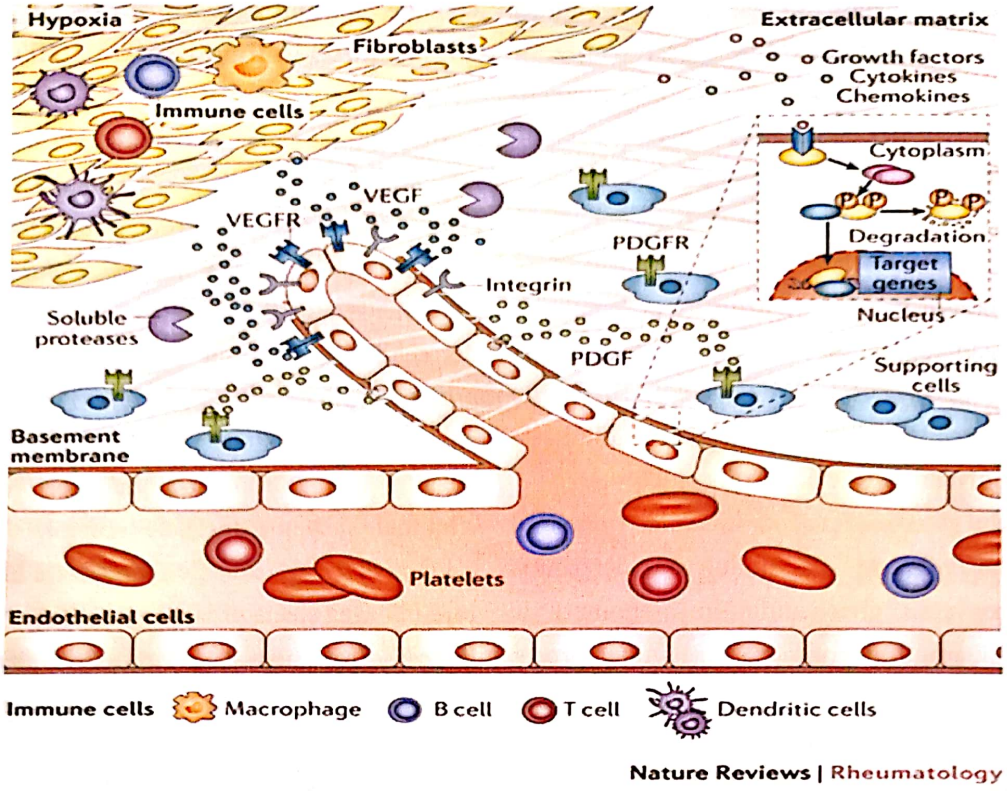


Fig. 14.11. Mecanisme implicate in activarea angiogenezei în inflamația cronică. AP-1, pro-teina 1 de activare a transcripției; ERK, kinază reglată de semnal extracelular; FOXO proteina; IκB, in-hibitor al NFκB; Kinaza IKK, IkB; JNK, kinază N-terminală; MAP2K, specificitate dublă MAPK kinază (cunoscută și ca MEK); PTEN, fosfatază și omolog de tensin; SOCS, supresor al semnalizării citokine-lor. Adaptat cu permisiune după Cristofanilli, M. și colab. Nat. Rev Drug Discov415-426 (2002).

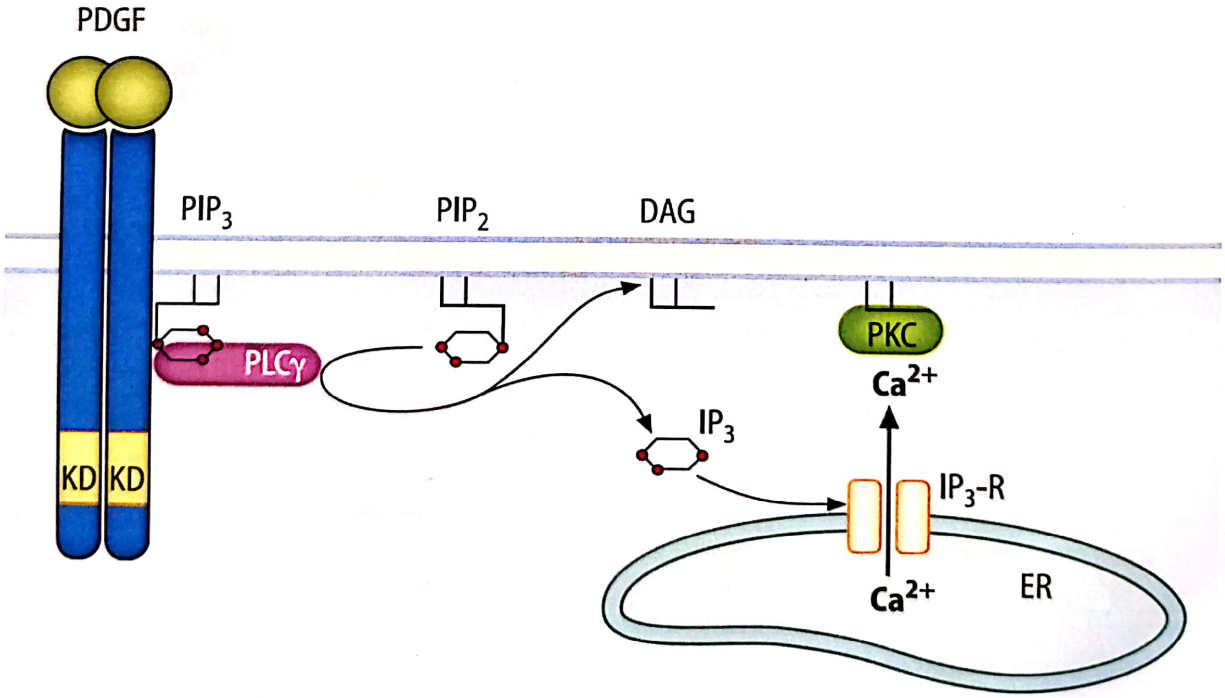


Fig 14.12. Mecanismele care stau la baza activității PDGF în celulă. PDGF, un factor de creștere derivat din plachetele sanguine. Abrevieri: PIP3, inozitol tri-fosfat; PIP2, inozitol di-fosfat; DAG, diacilglicerol; PKC, phosphoprotein kinaza C; IP3, inozitol tri-fosfat; IP3-R, receptor de inozitol tri-fosfat; ER, reticulul endoplasmatic (modificat după Petrides, 2014, cu permisiune).

Scanned with OKEN Scanner

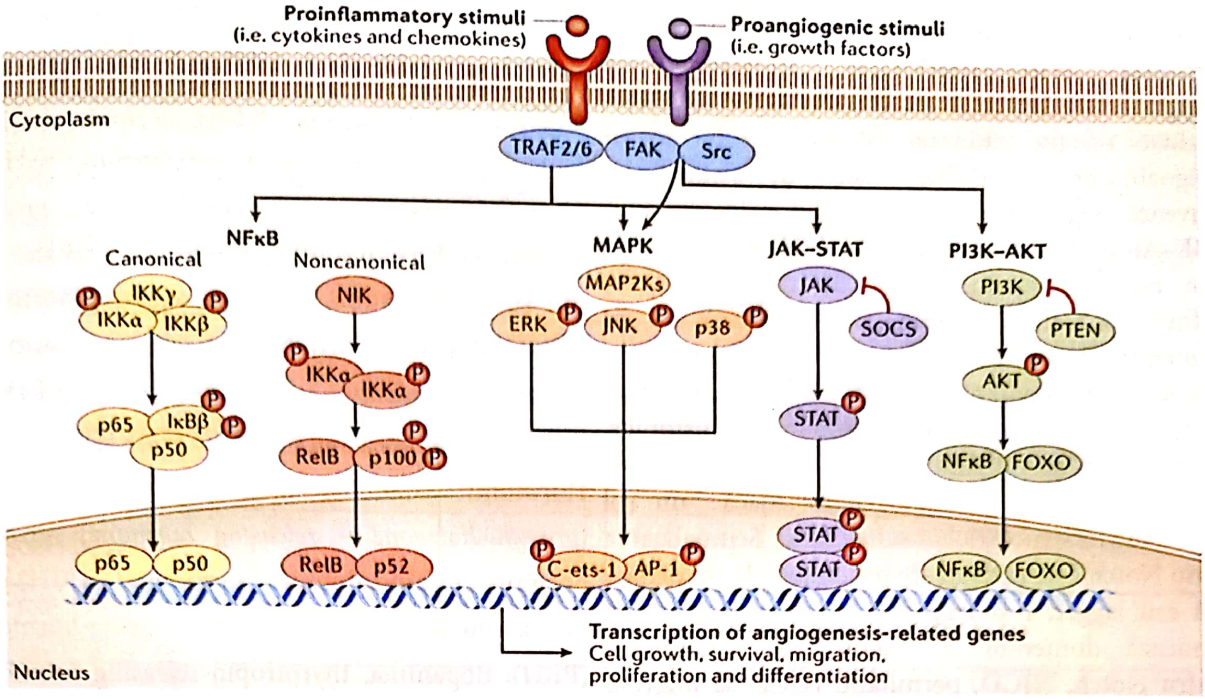


Fig. 14. 13. Activarea căilor de semnalizare intracelulare implicate în inflamație și angiogeneză de către factori de creștere și citokine, respectiv chemokine. Abrevieri: IκB, inhibitor al NFκB; Kinaza IKK, IkB; TRAF, factor asociat receptorului TNF. Adaptat după © Cristofanilli, M. et al. Nat. Rev. Drug Discov. 1, 415-426 (2002).

ca răspuns la stimulii proangiogenici sau proinflamatori (factori de creștere sau citokine). Se activează următoarele căii de semnalizare: NFκB (factorul nuclear κB), MAPK (proteina kinază activată de mitogen), JAK-STAT (traductor de semnal kinază și activator de transcripție) și PI3K-AKT (fosfatidilinozitol-4,5 -bisfosfat 3-kinază-RAC-a serin / treonină-proteină kinază (cunoscută și ca protein kinaza B). Aceste căi conduc în cele din urmă la **creșterea controlului** asupra proceselor care sunt esențiale pentru angiogeneză, incluzând creșterea celulară, supraviețuirea, migrația, proliferarea și diferențierea (Fig. 14.13).

Semnalizarea prin sphingozin-1-fosfat (S1P) este activată prin activarea receptorilor de tip S1P cuplați .

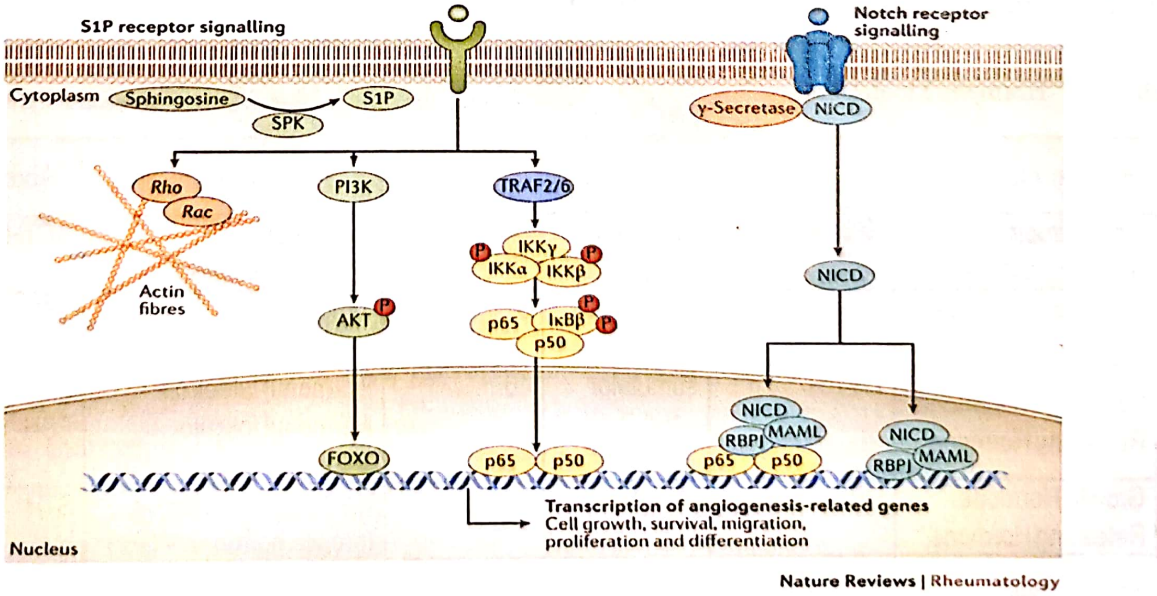


Fig. 14.14.Semnalizarea prin sphingozin-1-fosfat (S1P) este declansată prin activarea receptorilor S1P legați de proteina G din membrana celulară. Pentru detalii, vezi textul. Adaptat după Cristofanilli, M. et al. Nat. Rev. Drug Discov. 1, 415-426 (2002).

Scanned with OKEN Scanner

cu proteina G din membrana celulară. S1P se formează prin fosforilarea sfingozinei, o componentă de bază a tuturor sfingolipidelor, printr-o reacție catalizată de două izoforme ale sfingozin kinazei (SPK). Calea de semnalizare activează angiogeneza, în principal prin activarea PI3K-AKT (fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinază, care este o protein kinază de tip RAC- care fosforileaza resturi de serină/treonină). S1P are, de asemenea, un rol intracelular important (ca mesager secundar) influențand semnalizarea receptorului pentru TNF și deacetilarea proteinelor histonice. Semnalizarea de tip Rho și Rac, importantă pentru migrarea celulelor și angiogeneză, joacă un rol important în structura citoscheletului. Semnalizarea de tip Notch este activată de proteinele de tip delta 1 și 4 sau jagged-1 și jagged-2. Ulterior, γ-secretaza scindează domeniul intracelular al receptorului pentru Notch, NICD, permițând NICD să migreze către nucleu unde interacționează cu RBPJ (proteina de legare a semnalului recombinant Jk). Prin urmare, sunt sintetizati co-activatori suplimentari, cum ar fi proteine regulatoare de tip "mastermind" (MAML) care controlează gene implicate in agiogeneză (Fig. 14.14).

Hormonii hipotalamici reglatori și ai glandei pituitare

Hormonii hipotalamici (Tabel 14.1) sunt peptide sau polipeptide, unii dintre ei sunt depozitati la nivelul *neurohipofizei* de unde sunt eliberați în circulația sanguină, alții sunt secretați la nivelul vaselor portale hipotalamo-hipofizare și ajung la nivelul *adenohipofizei* inhibând sau stimulând activitatea acesteia, (Fig. 14.15)

Hormonii adenohipofizotropi includ GHRH (*growth hormone – releasing hormone*), growth hormone release-inhibiting hormone (GHRIH) numit și somatostatina, prolactin releasing-hormone (PRH), dopamina, thyrotropin-releasing hormone (TRH), corticotropin releasing hormone (CRH) și gonadotropin releasing hormone (GnRH).

Hormonii adenohipofizotropi includ GHRH (*growth hormone – releasing hormone*), growth hormone release-inhibiting hormone (GHRIH) numit și somatostatina, prolactin releasing-hormone (PRH), dopamina, thyrotropin-releasing hormone (TRH), corticotropin releasing hormone (CRH) și cu proteina G din membrana celulară. S1P se formează prin fosforilarea sfingozinei, o componentă de bază a tuturor sfingolipidelor, printr-o reacție catalizată de două izoforme ale sfingozin kinazei (SPK). Calea de semnalizare activează angiogeneza, în principal prin activarea PI3K-AKT (fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinază, care este o protein kinază de tip RAC- care fosforileaza resturi de serină/treonină). S1P are, de asemenea, un rol intracelular important (ca mesager secundar) influențand semnalizarea receptorului pentru TNF și deacetilarea proteinelor histonice.

Tab. 14.1. Hormonii hipotalamici

Hormoni hipotalamici	Abreviere	Actiune	Număr de aminoacizi	Hormoni hipofizari	Abreviere
Corticotropin releasing hormon	CRH	stimulator	41	Hormonul adrenocorticotrop	ACTH
Tyreotropin releasing hormon	TRH	stimulator	3	Tireotropina	TSH
Luteotropic Hormone Releasing Hormone	LH-RH	stimulator	10	Hormonul luteotrop Hormonul foliculo-stimulant	LH FSH
Growth Hormone Releasing Hormone	GRH	stimulator	44	Hormonul somatotrop (growth hormone = GH)	STH
Somatostatin	SS	inhibitor	14/28	Hormonul somatotrop Hormonul tirostimulator	STH TSH
Prolactin releasing inhibiting hormon	PIH	inhibitor	56	Prolactină	Prl

Scanned with OKEN Scanner

Tab. 61. Hormonii hipotalamici

Hormoni hipotalamici	Abreviere	Actiune	Număr de aminoacizi	Hormoni hipofizari	Abreviere
Corticotropin releasing hormon	CRH	stimulator	41	Hormonul adrenocorticotrop	ACTH
Tyreotropin releasing hormon	TRH	stimulator	3	Tireotropina	TSH
Luteotropic Hormone Releasing Hormone	LH-RH	stimulator	10	Hormonul luteotrop Hormonul foliculo-stimulant	LH FSH
Growth Hormone Releasing Hormone	GRH	stimulator	44	Hormonul somatotrop (growth hormone = GH)	STH
Somatostatin	SS	inhibitor	14/28	Hormonul somatotrop Hormonul tirostimulator	STH TSH
Prolactin releasing inhibiting hormon	PIH	inhibitor	56	Prolactină	Prl

gonadotropin releasing hormone (GnRH).

Prolactin releasing hormon (PRH) și prolactin –releasing hormone (PRIH) controlează secreția de prolactină. O serie de substanțe cu diferite caracteristici structurale determină eliberarea de prolactină, dintre care fac parte TRH, serotonina, oxitocina, vasoactive intestinal peptide (VIP).

Dopamina este o catecolamină secretată de hipotalamus în vasele portale hipotalamo-hipofizare de unde ajung la nivelul adenohipofizei inhibând

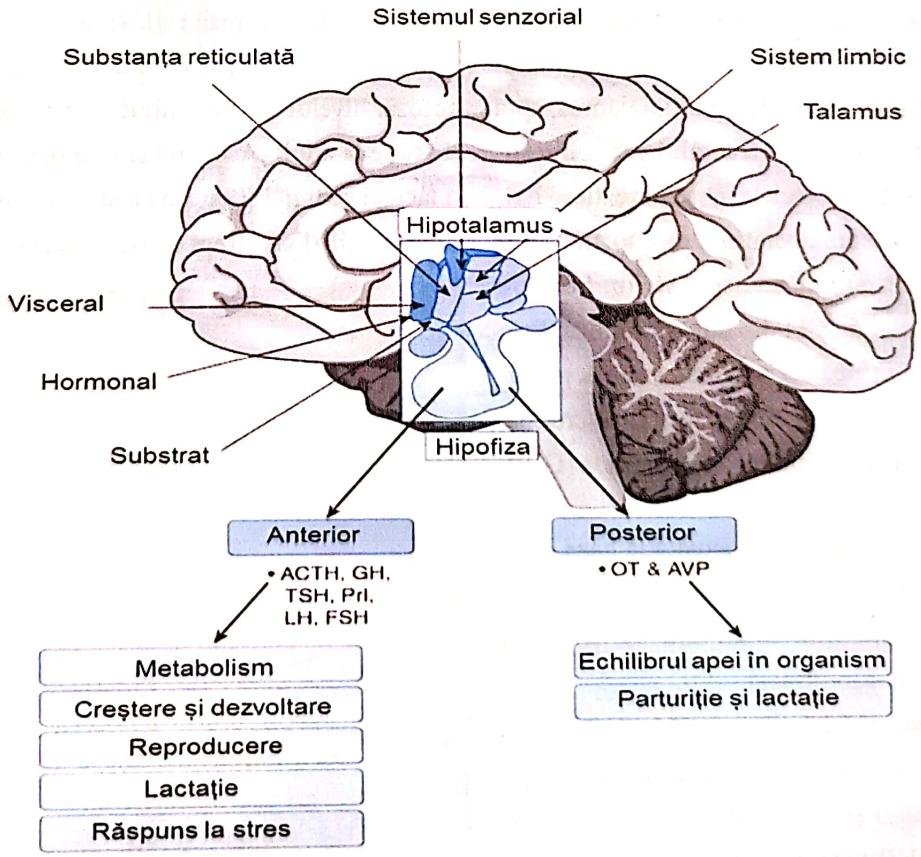


Fig. 14.11. Reglarea neuroendocrină a proceselor metabolice si functiilor fiziologice din organismul uman

Scanned with OKEN Scanner

secreţia de prolactină prin scăderea transcripţiei genice a prolactinei.

Tyrotropin releasing hormone (TRH) este un tripeptid – proglutamil-histidyl-prolinamidă. Se găseşte în special la nivelul nucleilor paraventriculari şi are drept funcţie majoră reglarea secreţiei de TSH de la nivelul hipofizei anterioare, precum şi a activităţii acestuia.

Corticotropin releasing hormone (CRH) este un peptid cu 41 de aminoacizi sintetizat la nivelul nucleilor paraventriculari şi ajunge la nivelul adenohipofizei prin intermediul vaselor portale hipotalamo-hipofizare determinând o sinteză crescută de ACTH şi proopiomelanocortină (POMC).

Growth Hormone Releasing hormone (GHRH) este sintetizat de către celulele nucleului arcuat şi este un peptid alcătuit din 40 şi respectiv 44 de aminoacizi ce stimulează secreţia de GH din adenohipofiză.

Gonadotropin – Releasing hormone (GnRH) este un hormon alcătuit dintr-un singur lanţ de aminoacizi ce este secretat episodic asigurând astfel secreţia optimă de LH şi FSH de la nivelul adenohipofizei.

Somatostatinul este un hormon alcătuit din 14 resturi de aminoacizi cu structură ciclică şi o punte disulfidică între două resturi de cisteină. Somatostatinul a fost iniţial descoperit în hipotalamus, apoi a fost identificat şi la nivelul tractului gastrointestinal (stomac, intestin), celulele D pancreatice. Există două forme ale somatostatinei ce cuprind 28 şi respectiv 14 resturi aminoacidice. Este un hormon inhibitor al secretiei de GH din adenohipofiză. Prin acţiune paracrină inhibă secreţia de insulină, glucagon şi hormoni gastrointestinali precum secretina, colecistokinină, gastric inhibitory polipeptide (GIP).

Glanda pituitară (hipofiza) este situată la baza creierului şi este alcătuită din trei regiuni:

- adenohipofiza (cuprinde lobul anterior şi vasele portale hipotalamo-hipofizare),
- partea intermediară (slab dezvoltată la om)
- lobul posterior (care împreună cu nucleii supraoptici, paraventriculari şi conexiunile nervoase dintre aceste structuri alcătuiesc neurohipofiza).

Hipofiza este legată de hipotalamus prin tija pituitară (Fig. 6.12).

Adenohipofiza secretă tropine (hormoni tropi) ce reglează atât dezvoltarea şi funcţiile altor glande endocrine cât şi procesele metabolice de la nivelul ţesuturilor periferice (Fig. 16.13)

Hormonii adenocorticotropi sunt în număr de 6, secretaţi de către cinci tipuri de celule specifice: ACTH (hormonul adrenocorticotrop), TSH (tireotropina), hormonul luteinizant (LH), hormonul foliculostimulant (FSH), hormonul somatotrop (STH sau GH), hormonul tiro-stimulator.

Hormonul de creştere (GH) sau somatotropina este un polipeptid alcătuit dintr-un singur lanţ ce contine 191 aminoacizi având două punţi disulfidice intramoleculare. Este secretat de către celulele somatotrope ale adenohipofizei. Secreţia fiziologică de GH este determinată de echilibrul dintre GHRH (somatocrinin) şi GHRIH (somatostatin).

Acţiunea GH poate fi clasificată astfel:

- acţiune directă a GH asupra celulelor ţintă;
- acţiune indirectă datorată abilităţii GH de a induce sinteza periferică a altor factori precum IGF-1, asemănător cu proinsulina şi sintetizat de către ficat. IGF-1 induce proliferarea celulară şi inhibă apoptoza, nivelul acestuia fiind crescut la adolescenţă şi scade la adult. Acest nivel este determinat de sex şi factori genetici şi este crescut în sarcină. Creşterea sintezei IGF-1 are drept consecinţă creşterea schelet-

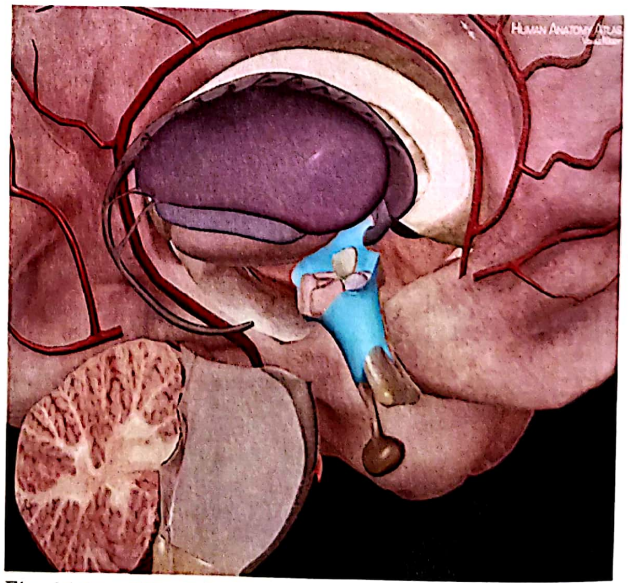


Fig. 14.12. Hipotalamus şi glanda pituitară

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

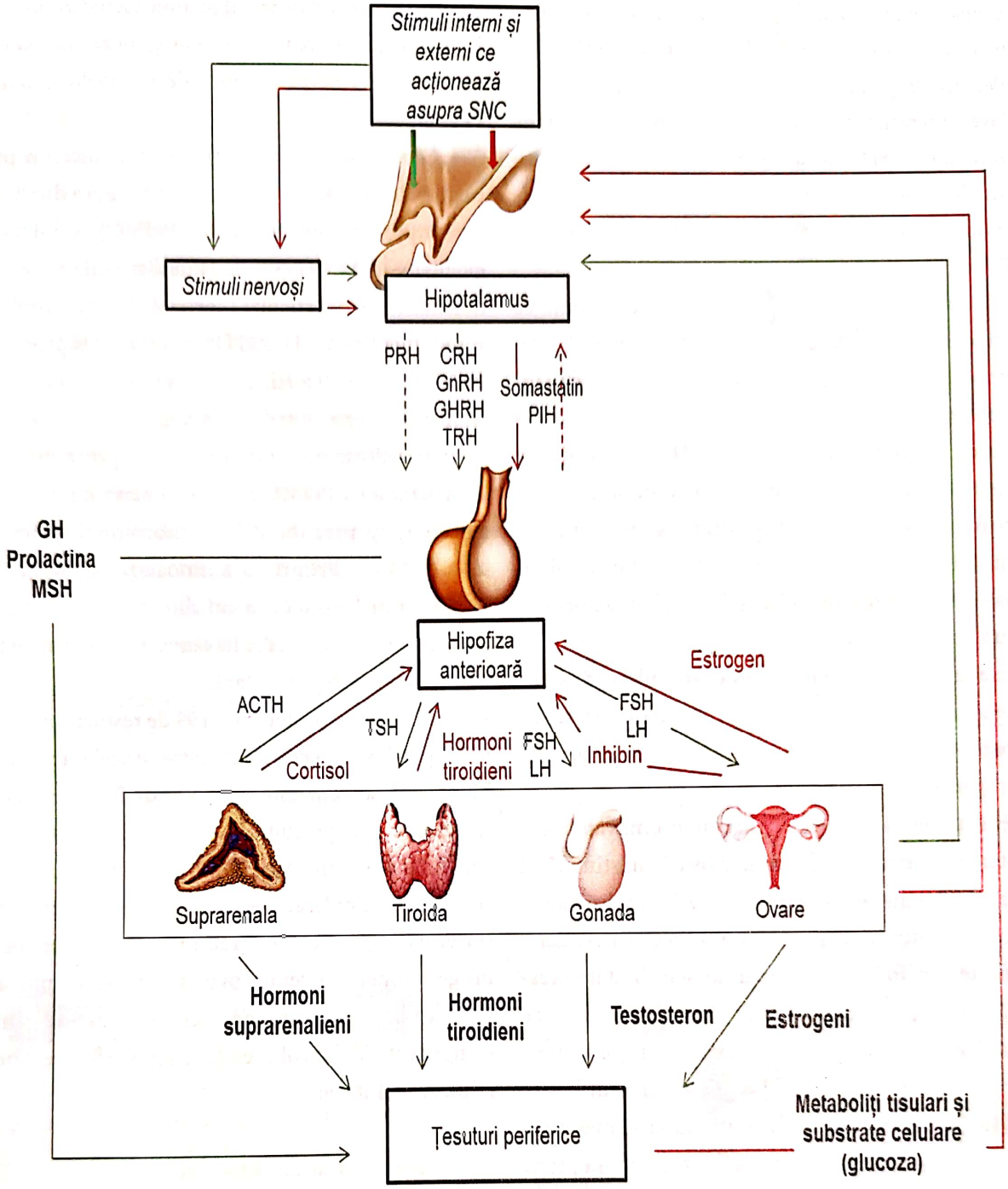


Fig. 14.13. Hormonii hipotalamici regulatori și ai glandei hipofizare

ului, mușchilor și viscerelor.

GH stimulează creșterea prin facilitarea proceselor anabolice:

- stimulează sinteza de proteine, sub acțiunea GH balanța azotată se pozitivează;
- la nivelul metabolismului glucidic are efecte antagonice cu ale insulinei: scade utilizarea periferică a glucozei, inhibă glicoliza și stimulează gluconeogeneza hepatică și glicogenogeneza. Hiperproducția de GH se manifestă prin semne caracteristice hipoinsulinismului (hiperglicemie, cetonemie).
- metabolismul lipidic este deplasat în favoarea lipolizei, mobilizării trigliceridelor din rezerve și creșterii acizilor grași din sânge.

Thyroid stimulating hormone (TSH) este o glicoproteină dimerică, alcătuită din două subunități, subu-

nitatea β este specifică, subunitatea α fiind comună cu cea a gonadotropinelor. Este secretat de către celulele tirotrope ale adenohipofizei şi are rol în stimularea secreţiei şi sintezei de hormoni tiroidieni. Secreţia de TSH este stimulată de hormonul eliberator de tirotropină (TRH), un tripeptid produs de hipotalamus şi inhibată de către hormonii tiroidieni (T3 şi T4).

Gonadotropinele (LH şi FSH) sunt glicoproteine ce includ *hormonul foliculostimulant, hormonul luteinizant* (LH) şi *placental hormone chorionic gonadotrophin* (hCG), ce este secretat de placentă şi are acţiune asemănătoare cu cea a LH. Fiecare dintre aceşti hormoni contin o unitate α comună şi o unitate β specifică şi au rol în maturarea gameţilor masculini şi feminini, reglează producţia de hormoni sexuali steroizi, promovând astfel dezvoltarea normală a funcţiilor sexuale.

Secreţia gonadotropinelor este stimulată de *hormonul eliberator de gonadotropină* (GnRH) şi inhibată de *hormonii sexuali steroizi* (androgeni şi estrogeni).

FSH acţionează la nivelul ovarului, promovând dezvoltarea şi maturarea foliculilor ovarieni, stimulând ovulaţia. Mediază conversia steroizilor androgeni la estrogeni (estradiol) şi induce proliferarea celulară. O parte din foliculii ovarieni au sensibilitate crescută la FSH şi se dezvoltă mult mai rapid.

În a doua fază a ciclului menstrual creşte nivelul estradiolului şi scade nivelul FSH, chiar şi în aceste condiţii foliculii dominanţi continuă să se matureze iar cei cu sensibilitate redusă întră în apoptoză (moarte celulară programată). FSH promovează inducţia receptorilor LH, care la mijlocul ciclului menstrual, împreună cu hormonii steroizi stimulează ovulaţia prin ruperea foliculului ovarian şi transformarea ulterioară a acestuia în corp luteal. LH stimulează steroidogeneza la nivelul ovarului, androgenii produşi servesc drept precursori pentru sinteza estradiolului.

La bărbat FSH acţionează împreună cu testosteronul asupra celulelor Sertoli de la nivelul testiculului, promovând sinteza proteinelor, în special a proteinei transportoare a hormonilor androgeni, numită inhibină şi promovează spermatogeneza. LH stimulează secreţia de testosteron de la nivelul celulelor Leydig.

Hormonul adrenocorticotrop (ACTH) este un polipeptid alcătuit din 39 de aminoacizi ce are drept precursor proopiomelanocortina (POMC). Rolul biologic major al ACTH este acela de a stimula sinteza de hormoni glucocorticoizi (cortizol) fiind şi inhibitor al secreţiei de ACTH. ACTH stimulează şi producţia de mineralocorticoizi, cu precădere de aldosteron. Activează etapa iniţială în sinteza hormonilor steroizi, transformarea colesterolului în pregnenolonă. Prin scindarea POMC rezultă în afară de ACTH şi alţi compuşi precum: β-LPH (hormonul lipotrop), α- şi β-MSH. Primii 13 aminoacizi din structura ACTH sunt identici cu cei din structura α-MSH, nivelul crescut de ACTH în sânge este asociat cu hiperpigmentare tegumentară.

Prolactina este o proteină cu 199 de resturi aminoacidice, produsă şi secretată de către celulele lactotrope hipofizare. Secreţia este stimulată de PRH şi inhibată de substanţe precum dopamina. Alţi compuşi cu rol stimulator sunt: VIP, TRH şi posibil serotonina. Are rol în stimularea secreţiei lactate ce se manifestă după naştere când scade nivelul estrogenilor şi progesteronei. La femei ovulaţia poate fi inhibată deconcentraţiile sanguine crescute ale prolactinei prin defecte în dezvoltarea foliculară şi indirect prin reducerea sintezei

Patobiochimia adenohipofizei

Acromegalia apare atunci când există o hiperproducţie de GH de la nivelul hipofizei anterioare. Mai mult de 90% din pacienţii cu acromegalie au adenom benign al glandei hipofize ce se dezvoltă lent, de aceea pacienţii care se prezintă cu astfel de adenoame sunt peste vârsta de 50 de ani. 25% dintre aceste adenoame cosecretă prolactină. Hipersecreţia de GH înainte de pubertate este responsabilă de apariţia gigantismului.

În cea mai mare parte a cazurilor, acromegalia este cauzată de producţia excesivă de GH sau GHRH. În

Scanned with OKEN Scanner

rare cazuri boala este asociată cu sindroame familiale, incluzând neoplazia endocrină multiplă tip 1, sindromul McCune-Albright, acromegalia familială şi sindromul Carney`s.

Acromegalia se caracterizează prin: creştere a extremităţilor, hipertrofia ţesuturilor moi, artrită, artralgii, prognatism, sindrom de tunel carpian, visceromegalie, tulburări ale ciclului menstrual, galactoree, (Fig. 6.14).

Manifestările clinice ale bolii se dezvoltă insidios pe parcursul unei decade (7-10 ani) de la debutul presupus al bolii şi până la primele semne de boală. Din punct de vedere biochimic pacienţii prezintă: toleranţă alterată la glucoză, rezistenţa la insulină şi hiperinsulinemie, diabet zaharat, hipertrigliceridemie, hipercalciurie, creşterea nivelului de aldosteron şi scăderea nivelului de renină, (Fig. 6.15)

Diagnosticul de laborator al acromegaliei constă în

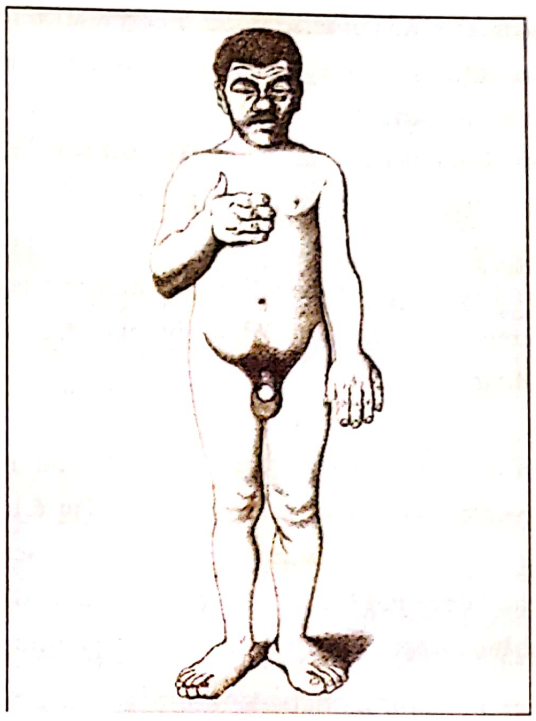
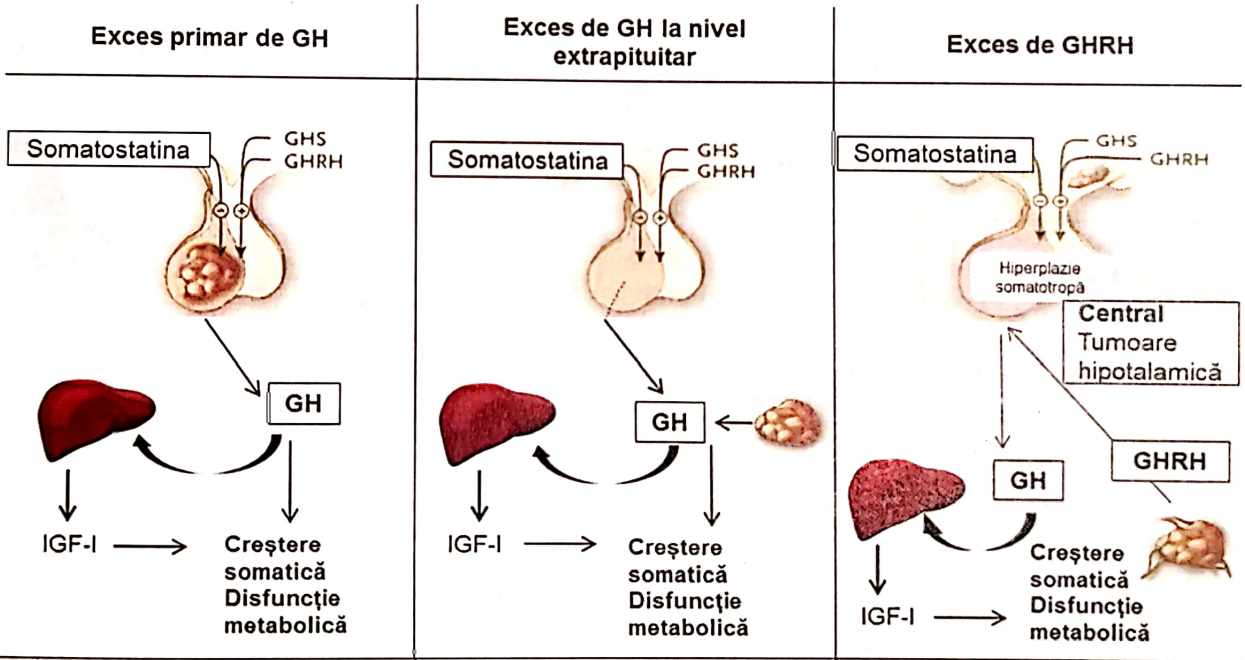


Fig. 14.14. Acromegalie



Adenom pituitar
Celule dens granulate
Celule mai puţin dens granulate
Celule GH şi PRL
Celule mamosomatotrope
Celule plurihormonale
Adenom somatotrop silenţios
Carcinom pituitar
Tumoare extrapituitară

Sindroame familiare
Neoplazia endocronă multiplă de tip 1
Sindromul McCune-Albright
Acromegalie familiară
Complexul Carney

Tumoarea celulelor insulare
Limfom
Iatrogen

Periferic
Carcinom bronhial
Tumoarea celulelor insulare
Cancer pulmonar microcelular
Adenom adrenal
Cancer medular de tiroidă
Feocromocitom

Fig. 14.15. Cauzele acromegaliei (modificată după N. ENGLJ MED 355; 24, 2006)

Scanned with OKEN Scanner

măsurarea nivelului seric al IGF-1 care este crescut la pacienţii cu acromegalie, acesta fiind responsabil de creşterea scheletului, muşchilor şi viscerelor.

Testul de toleranţă orală la glucoză se realizează prin administrarea a 75g de glucoză, această doză suprimă secreţia de GH la pacienţii normali cu peste 2ng/ml, dar nu şi la pacienţii cu acromegalie care au o secreţie autonomă de GH de la nivelul adenomului hipofizar.

Subtipurile de receptori ai somatostatinelor hipofizare, receptorul D_2 şi receptorii GH sunt ţinte terapeutice în tratamentul acromegaliei, (Fig. 6.16).

Ligandul receptorului somatostatinelor (SRL) scade nivelul GH şi IGF1, limitând creşterea tumorală şi inhibând receptorul hepatic al GH. Antagoniştii receptorului GH previn semnalizarea acestuia cu scăderea nivelului periferic al IGF1.

Hiperprolactinemia reprezintă creşterea nivelului prolactinei peste valoarea normală. Cauzele hiperprolactinemiei pot fi:

- fiziologice: *sarcină, supt, stres*;
- cea mai comună cauză este determinată de administrarea unor medicamente ce interferă cu sinteza dopaminei. Aceşti agenţi includ: *opioidele, antidepresive triciclice, neuroleptice (fenotiazine), metoclopramid, antihipertensive, estrogeni în doză mare etc.*
- patologice: tumori *ce secretă prolactina, tumori ale glandei pituitare, insuficienţă renală, hipotiroidism.*

Hiperprolactinemia determină tulburări ale ciclului

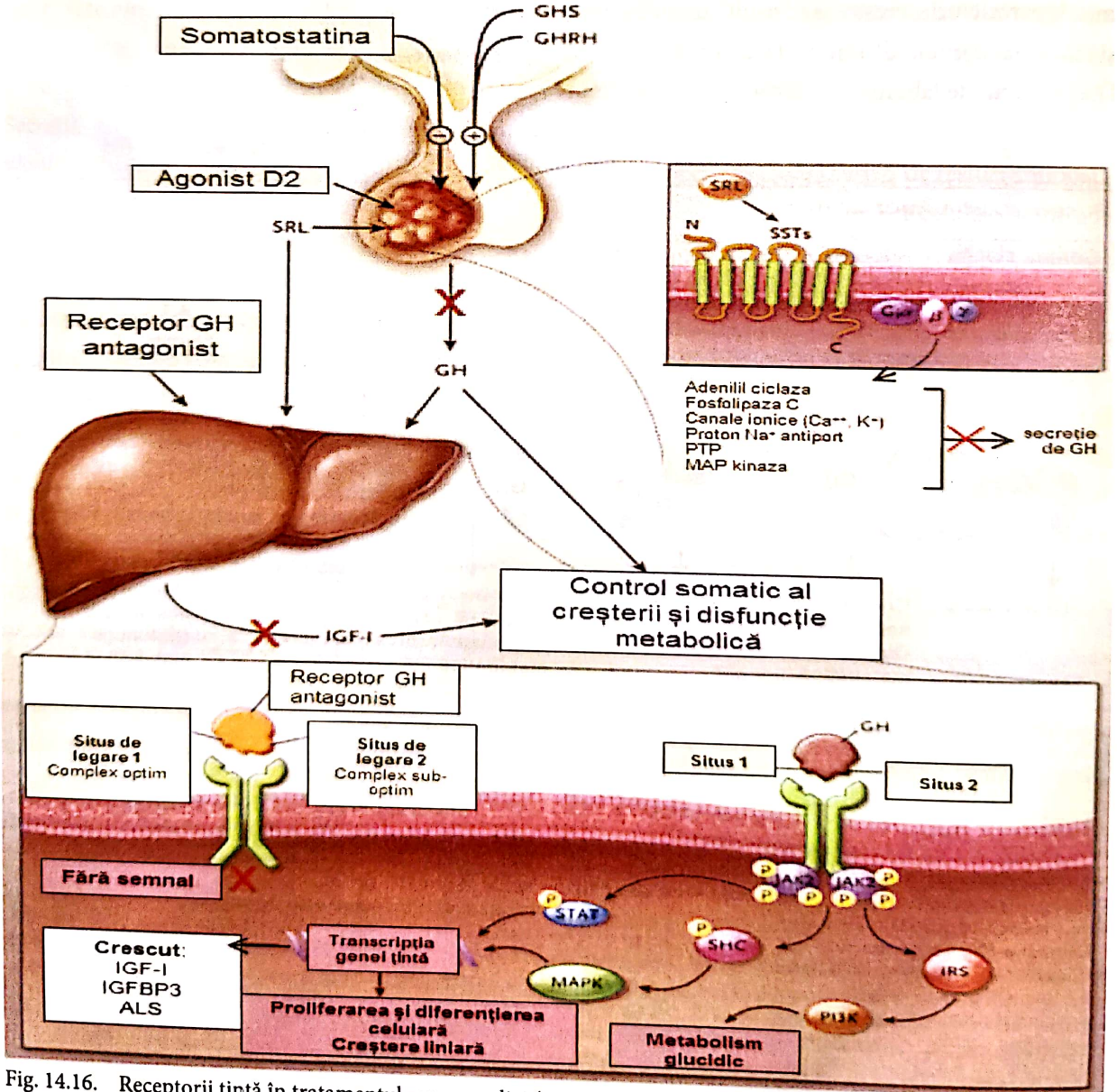


Fig. 14.16. Receptorii ţintă în tratamentul acromegaliei (modificată după N. ENGLJ MED 355;24. December 2006)

Scanned with OKEN Scanner

menstrual (amenoree, oligomenoree) şi infertilitate.

Hormonii hipofizei posterioare (neurohipofizei)

Vasopresina (VP) cunoscută şi sub numele de hormon antidiuretic (ADH) şi oxitocina sunt hormoni sintetizaţi de hipotalamus şi depozitaţi la nivelul hipofizei posterioare.

Oxitocina şi vasopresina sunt transportate de proteine numite neurofizine, specifice fiecărui hormon.

Vasopresina (VP, ADH) este sintetizată de nucleii supraoptic şi paraventricular din hipotalamus. Stimulii ce determină eliberarea de vasopresină sunt reprezentaţi de schimbări ale osmolarităţii plasmatice ce sunt sesizate de osmoreceptorii din hipotalamus, precum şi de schimbările de presiune de la nivelul cordului sau sistemului vascular sesizate de baroreceptorii localizaţi la nivelul atriului sau sinusului carotidian.

Numele de vasopresină evidenţiază abilitatea hormonului de a genera vasoconstricţia. Această acţiune este mediată de receptorii V1 situaţi la nivelul celulelor musculare netede din pereţii vasculari. Contracţia acestor celule este mediată de activarea fosfolipazei C ce promovează sinteza de IP3 şi DAG. IP3 stimulează eliberarea de calciu din reticulul endoplasmic contribuind astfel la răspunsul celular. ADH-ul are rol în menţinerea tensiunii arteriale în cazul hipovolemiilor.

Vasopresina participă la *homeostazia osmolarităţii* şi *fluidului plasmatic extracelular* prin reglarea eliminării renale de apă. Acţionează la nivelul tubilor renali distali şi colectori determinând creşterea reabsorbţiei de apă.

Oxitocina este un nonapeptid secretat de nucleii supraoptic şi paraventricular din hipotalamus, stimulează frecvenţa şi amplitudinea contracţiei muşchilor netezi uterini. Efectul este dependent de estrogen, hormon al cărui nivel creşte pe masură ce sarcina avansează acest lucru explicând creşterea sensibilităţii uterine la oxitocină cu declanşarea travaliului uterin.

Un alt rol important al oxitocinei este reprezentat de contracţia celulelor mioepiteliale ale glandei mamare ce determină ejecţia laptelui.

Patobiochimia neurohipofizei

Diabetul insipid este determinat de deficitul în secreţia ADH sau acţiunea inadecvată a acestuia. Acest lucru are drept rezultat o eliminare urinară crescută de apă, pacienţii prezentând o urină diluată. Pacienţii cu diabet insipid prezintă poliurie şi sete continuă, datorată creşterii osmolarităţii plasmei.

Diagnosticul de laborator se bazează pe determinarea osmolarităţii urinare şi excluderea altor cauze de poliurie (diabet zaharat, insuficienţă renală cronică, hipopotasemie, hipercalcemie etc). Diabetul insipid se caracterizează prin osmolaritate urinară scăzută, osmolaritatea plasmatică şi nivelul sodiului sunt crescute.

Hormonii tiroidieni

Sunt sintetizaţi de glanda tiroidă pornind de la tireoglobulină şi iod ca precursori. Hormonii tiroidieni sunt: *triiodotironina* (T3) şi *tetraiodotironina* (T4), (Fig. 6.17).

Sinteza hormonilor tiroidieni este un sistem complex care are loc la interfaţa dintre celule şi coloid, presupune într-o primă etapă transportul iodului din sânge în celulele acinare tiroidiene contra gradientului de concentraţie, prin mecanism activ, (Fig. 6.18). Într-o etapă ulterioară are loc oxidarea iodului şi iodurarea unor resturi tirozil din tireoglobulină, urmată apoi de cuplarea resturilor de tirozină iodurată şi formarea T3 şi T4. Ultima etapă este reprezentată de endocitoza tireoglobulinei din coloid în celule, hidroliza proteinei, eliberarea T3 şi T4 în sânge (raportul este de 10/1).

Timpul de înjumătăţire plasmatic este de aproximativ 7 zile pentru T4 şi 1-1,5 zile pentru T3. Hormonii tiroidieni circulă prin plasmă legaţi de proteine, proteina cu cea mai mare afinitate este tiroid binding globulin (TBG). Forma liberă a hormonilor este cea activă fiind capabilă să străbată membranele celulare, această formă reprezintă doar 0,03% din T4 to-

Scanned with OKEN Scanner

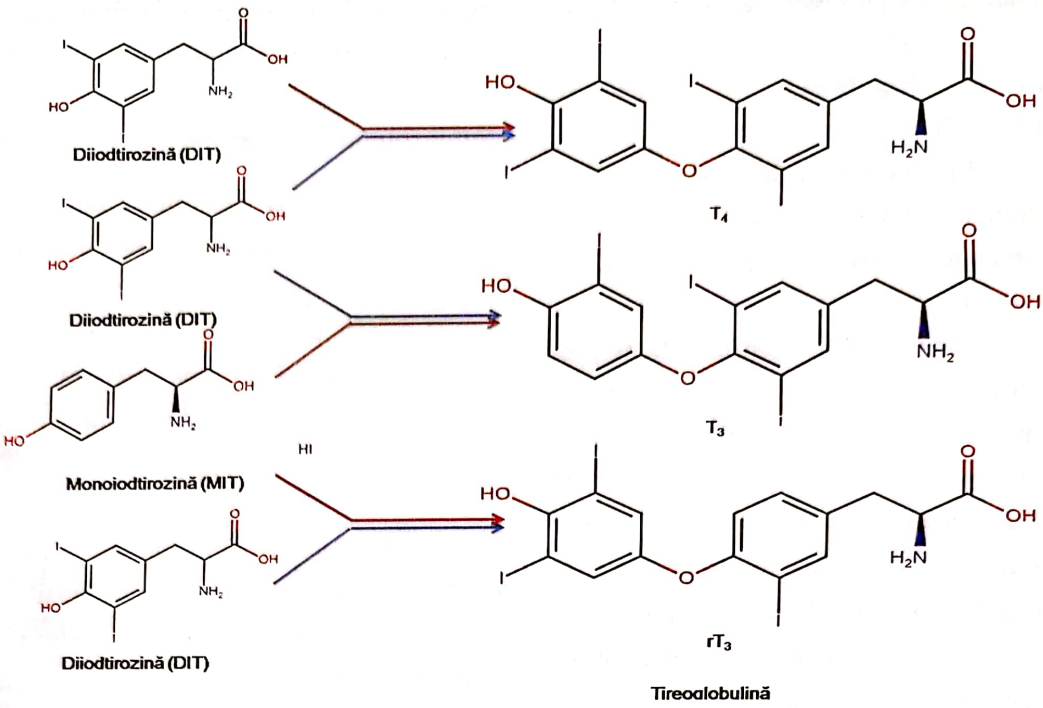


Fig. 14.17. Hormonii tiroidieni (modificată după Marks, 2005)

tal şi 0,3% din T3. Forma legată de proteine serveşte drept rezervor din care se pot elibera formele active. Hormonii tiroidieni sunt degradaţi la nivelul ficatului, rinichiului, muşchilor şi a altor ţesuturi, prin deiodurare cu formarea unor compuşi inactivi.

Secreţia hormonilor tiroidieni este controlată printr-un mecanism de feed-back prin intermediul axului hipotalamo-hipofizo-tiroidian, (Fig. 6.19). TRH eliberat din hipotalamus, stimulează eliberarea TSH de la nivelul hipofizei anterioare care stimulează

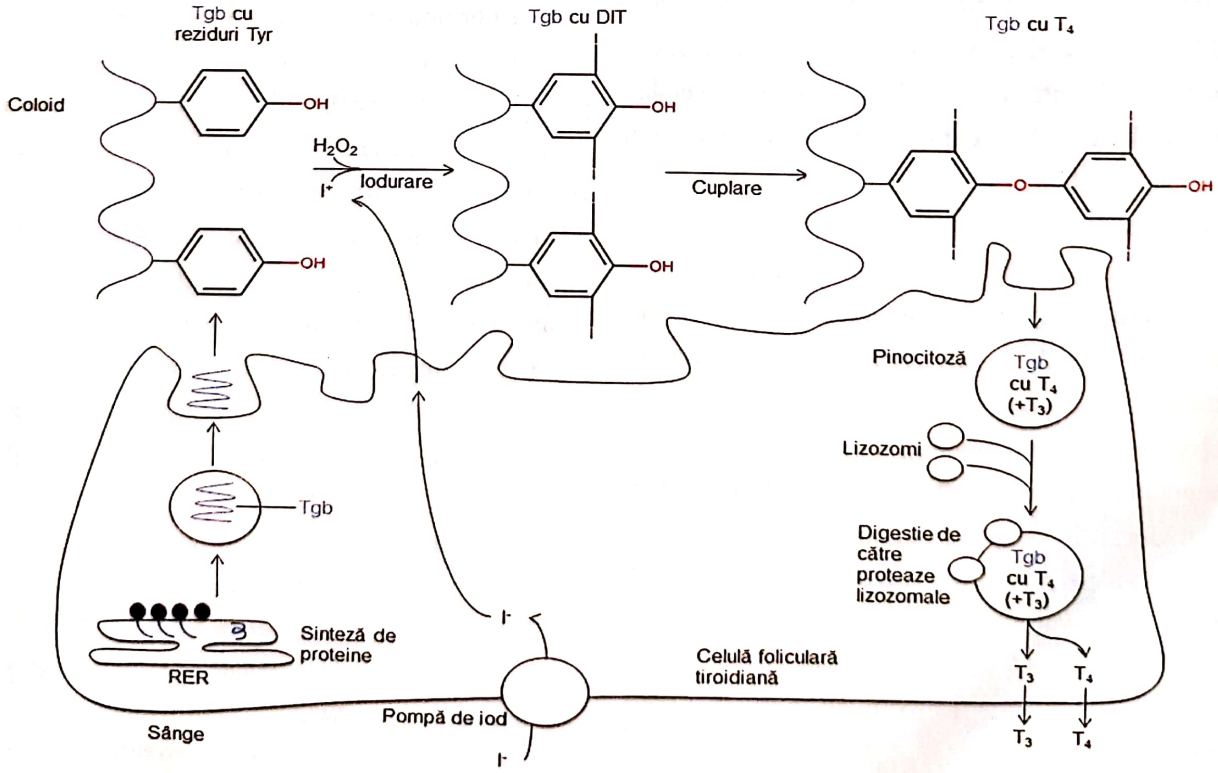


Fig. 14.18. Sinteza hormonilor tiroidieni (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

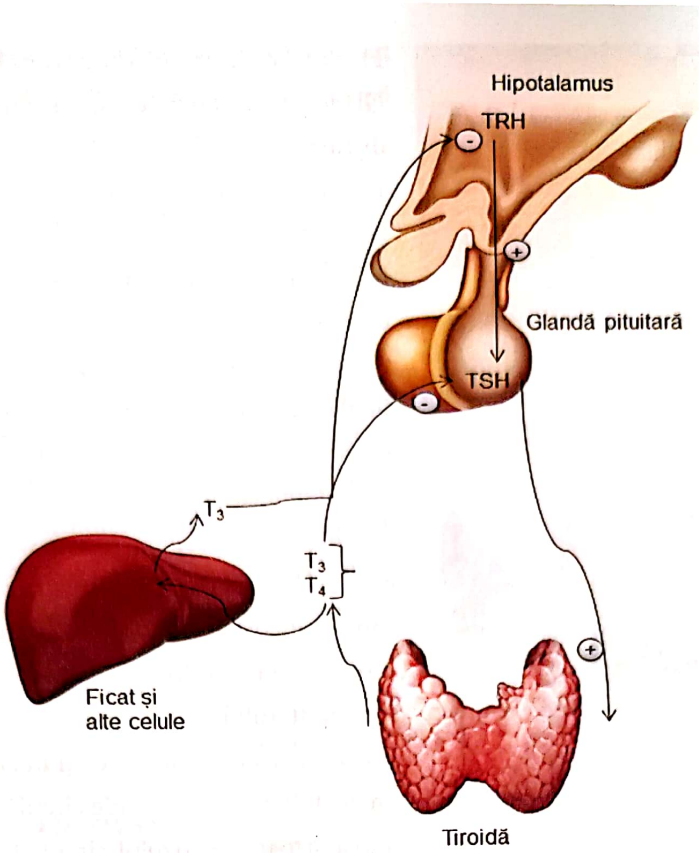


Fig. 6.19. Reglarea sintezei şi secreţiei hormonilor tiroidieni (modificată după Marks, 2005)

la rândul lui eliberarea de T3 şi T4 din tiroidă. T4 este convertit oară şi de TRH de la nivelul hipotalamusului. Funcţia metabolică generală a hormonilor tiroidieni este aceea de a controla procesele metabolice prin care se obţine energie (ATP) şi căldură (acţiune calorigenă).

Sub acţiunea hormonilor tiroidieni creşte viteza metabolismului bazal, scad rezervele energetice lipidice şi glucidice, catabolismul proteic este intensificat iar balanţa azotată se negativează.

Hormonii tiroidieni acţionează şi asupra proceselor de creştere şi diferenţiere celulară, asupra contracţiei miocardului.

La nivelul ficatului cresc viteza de sinteza colesterolului şi transformarea acestuia în săruri biliare, stimulează glicoliza. Prin aceste acţiuni stimulează indirect gluconeogeneza şi glicogenoliza facilitând acţiunea adrenalinei.

La nivelul adipocitelor promovează acţiunea lipolitică a adrenalinei şi stimulează indirect lipogeneza datorită disponibilităţii crescute de glucoză şi insulină.

La nivelul muşchilor cresc utilizarea glucozei (glicoliza), glicogenoliza şi sinteza proteică.

La nivelul pancreasului hormonii tiroidieni stimulează eliberarea de insulină prin creşterea sensibilităţii celulelor B.

Acţiunea calorigenă a hormonilor tiroidieni se datorează influenţei pe care aceştia o exercită în utilizarea substratelor energetice ce eliberează ATP şi generează căldură.

Sub acţiunea hormonilor tiroidieni este stimulată secreţia de adrenalină ce stimulează termogenina de a nivelul ţesutului adipos brun, cu decupla rea lanţului transportorilor de hidrogen şi electroni de fosforilarea oxidativă şi producţia de căldură.

Patobiochimia glandei tiroide

Hipertiroidismul este datorat unei hiperproducţii de hormoni tiroidieni. Cea mai frecventă cauză este

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 14.20. Guşa endemică.

reprezentată de *boala Basedow–Graves*, boală autoimună determinată de prezenţa auto-anticorpilor care leagă şi stimulează receptorul pentru TSH la nivelul glandei tiroide.

Hipertiroidismul se caracterizează prin: scădere în greutate, tahicardie, fibrilaţie atrială, palpitaţii, nervozitate, intoleranţă la căldură, exoftalmie, hiperglicemie, hipercolesterolemie.

Hipotiroidismul instalat în perioada intrauterină sau la nou-născut determină tulburări de creştere şi dezvoltare (nanism tiroidian) sau deficienţe neuro-psihice (cretinism). Cauza cea mai frecventă este reprezentată de tiroidita Hashimoto, caracterizată prin distrugerea autoimună atrofică a glandei tiroide, a doua cauză frecventă fiind reprezentată de deficitul de iod în special în zonele endemice. Guşa endemică (distrofia endemică tireopată) este cea mai frecventă afecţiune şi se caracterizează printr-o hipertrofie a glandei care încearcă să compenseze funcţia deficitară, (Fig. 6.20). Hipotiroidismul se manifestă clinic prin letargie, intoleranţă la frig, creştere în greutate, căderea părului, depresie, piele uscată şi îngroşată.

Hormonii glandei suprarenale

Glandele suprarenale sunt alcătuite din două zone distincte:

• zona externă – corticosuprarenala care secretă hormonii *corticosteroizi*. Aceasta este împărţită la rândul ei în mai multe zone: zona glomerulară externă care secretă mineralocorticoizii,
zona fasciculată ce secretă glucocorticoizi şi zona reticulată ce secretă hormonii androgeni.

• zona internă – medulară, aceasta secretă *catecolaminele*.

Hormonii corticosuprarenalei sunt steroizi reprezentaţi de: cortizol (glucocorticoid), aldosterona (mineralocorticoid), dihidroepiandrosterona şi androstendiona (androgeni). Aceştia au drept precursor colesterolul.

Corticosteroizii sunt secretaţi în circulaţia sanguină imediat după sinteză, unde circulă legaţi de proteine transportoare, cortizolul circulă legat de transcortină (CBP), (Fig. 6.21). După îndeplinirea funcţiei lui

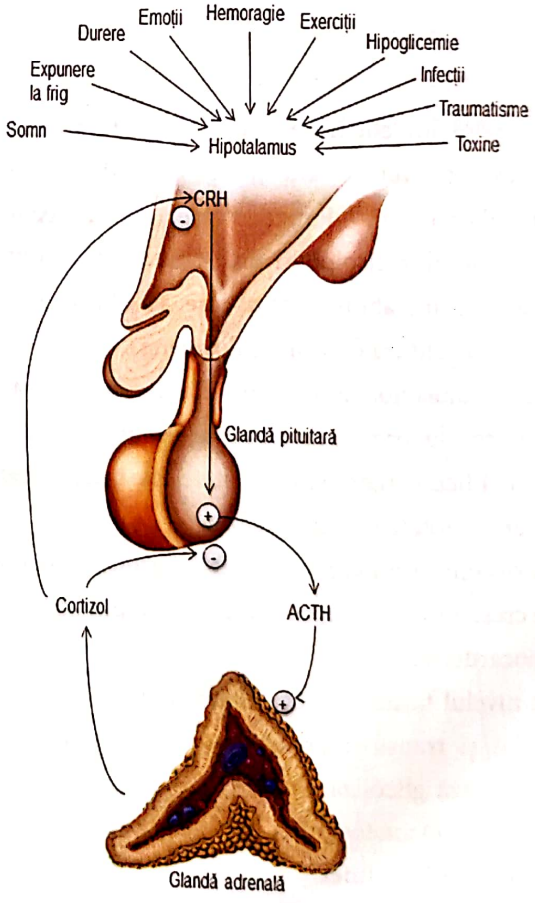


Fig. 14.21. Reglarea secreţiei de cortizol (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

la nivelul organelor ţintă, cortizolul este catabolizat în cea mai mare parte de ficat şi eliminat prin urină sub forma de glucorono- şi sulfoconjugaţi.

Sinteza hormonilor steroidici

Hormonii steroidici naturali sunt în general sintetizaţi din colesterol în gonade şi glande suprarenale. Aceste forme de hormoni sunt lipide. Fiind liposolubili traversează membrana celulară şi se leagă la receptorul hormonul steroid (care poate fi nuclear sau citosolic) pentru a produce schimbări la nivel celular. Hormonii steroidici circulă în sânge legaţi de proteine transportoare specifice precum globulina de legare a hormonilor sexuali sau proteina de legare a corticosteroizilor. Conversiile suplimentare şi catabolismele au loc la nivelul ficatului şi ţesutului periferic, precum şi în ţesuturile ţintă. (Fig. 6.22).

Mecanismul de acţiune al hormonilor steroidici

Spre deosebire de hormonii proteici, hormonii steroidici difuzează prin membrana celulară şi se leagă de receptori intracelulari eliberând proteinele de tip „heat-schock" Hsp90 legate de forma inactivă a receptorului (Fig. 6.23). Prin disocierea proteinei de tip Hsp90 se expun atât situsul de legare pentru ADN-ul din nucleu cât şi secvenţa de migrare către nucleu (NLS). Migrarea către nucleu are loc sub forma de dimer care se leagă de secvenţe specifice din ADN de tip „enhancer" care în final activează transcripţia cu formarea de ARN mesager care migrează in citoplasma şi iniţiază sinteza proteică. Pe ansamblu acest proces reprezintă raspunsul celular la semnalul hormonilor steroidici.

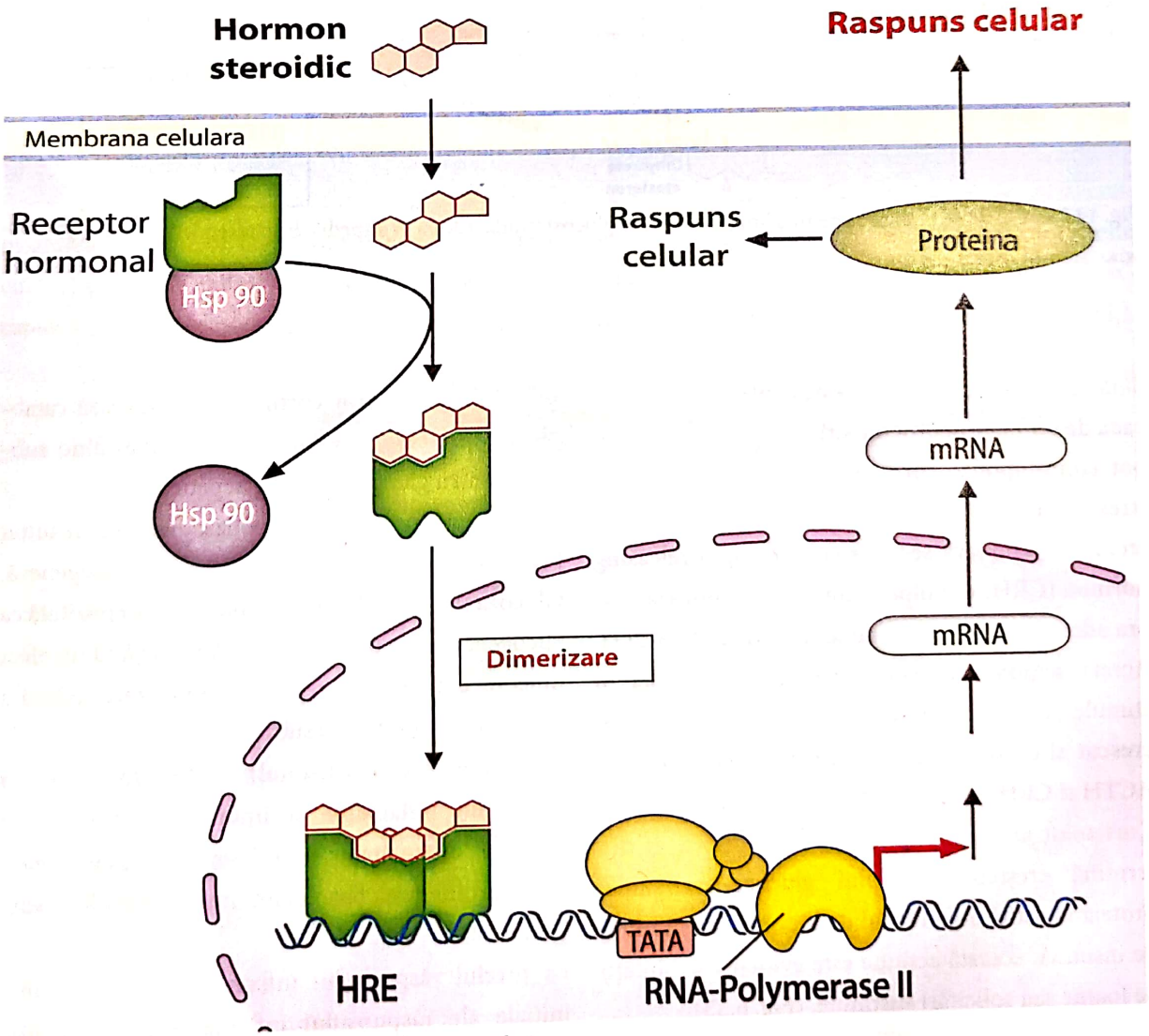


Fig. 14.22. Caile de sinteza ale hormonilor steroidici

Scanned with OKEN Scanner

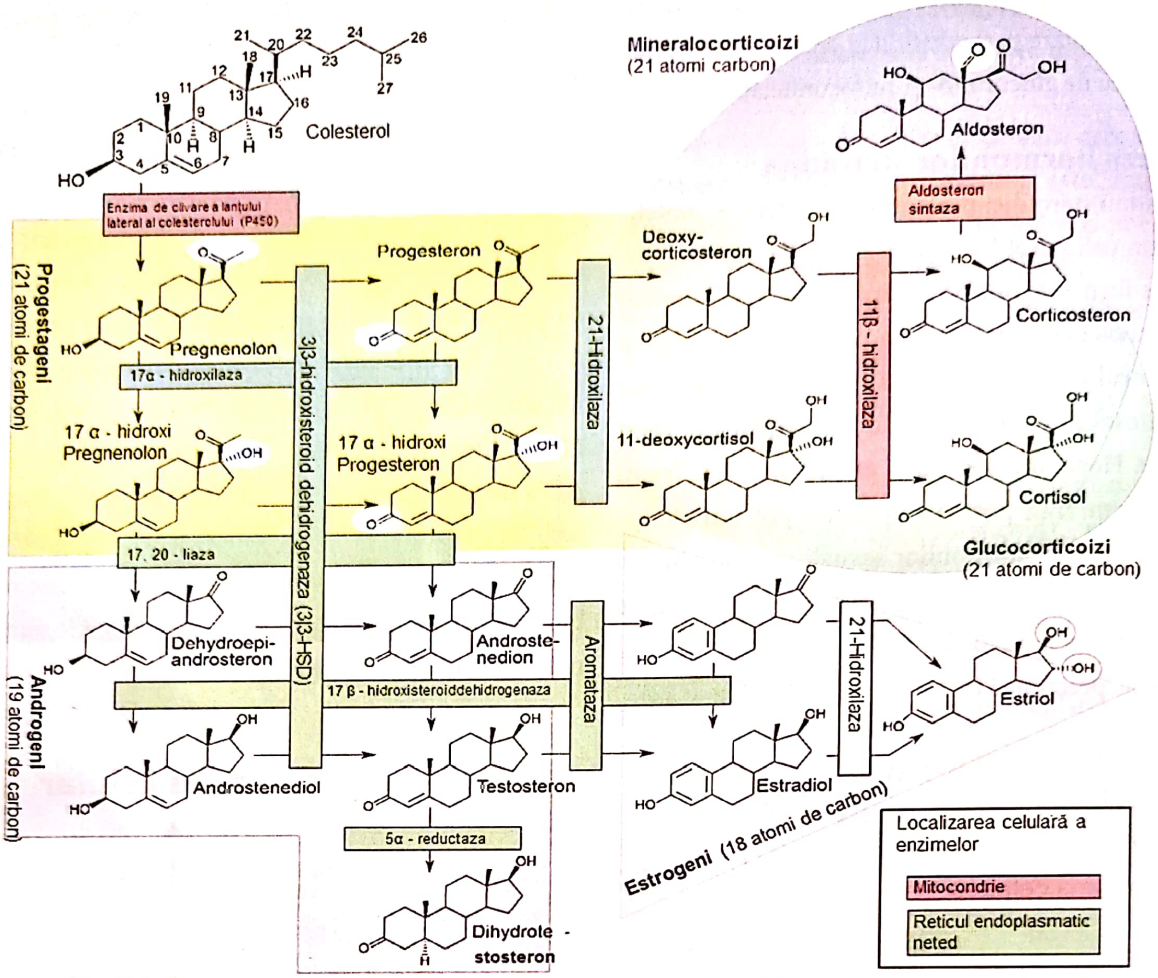


Fig. 14.23. Căi de semnalizare pentru hormonii de tip glucosteroidic (dupa Wikipedia: https://en.wikipedia.org/wiki/Steroid_hormone).

Sinteza şi secreţia de cortizol este controlată de o cascadă de semnale neuroendocrine ce implică axul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenalian. Stimuli de stres (durere, emoţii, hipoglicemie, hemoragie, exerciţii) declanşează secreţia corticotropin releasing hormon (CRH) din hipotalamus, ce acţionează asupra adenohipofizei determinând secreţia de ACTH. Acesta acţionează asupra corticosuprarenalei şi stimulează sinteza şi secreţia de cortizol. Nivelul crescut al cortizolului în sânge suprimă sinteza de ACTH şi CRH, (Fig. 6.24).

Cortizolul are efecte antagoniste insulinei, el determină creşterea nivelului glucozei sanguine, protejând astfel organismul de hipoglicemia indusă de insulină, această acţiune este evidentă în situaţii de foame sau solicitări susţinute, (Fig. 6.25).

La nivelul muşchilor cortizolul promovează catabolismul proteinelor, aminoacizii rezultaţi fiind substrat pentru gluconeogeneza hepatică.

În adipocite, promovează lipoliza, glicerolul rezultat fiind captat de ficat şi utilizat în gluconeogeneză. Glucoza sintetizată la nivel hepatic este depozitată ca glicogen, o mică parte trece în sânge, având un efect hiperglicemiant în corelaţie cu o utilizare redusă a glucozei în muşchi şi ţesutul adipos.

Cortizolul (hidrocortizonul) acţionează şi asupra sistemului inflamator şi imunologic. Stimulează formarea eritrocitelor şi proliferarea granulocitelor, scade proliferarea bazofilelor, numărul de limfocite şi monocite.

La nivelul răspunsului inflamator, inhibă stadiile iniţiale ale răspunsului inflamator (vasodilataţia,

Scanned with OKEN Scanner

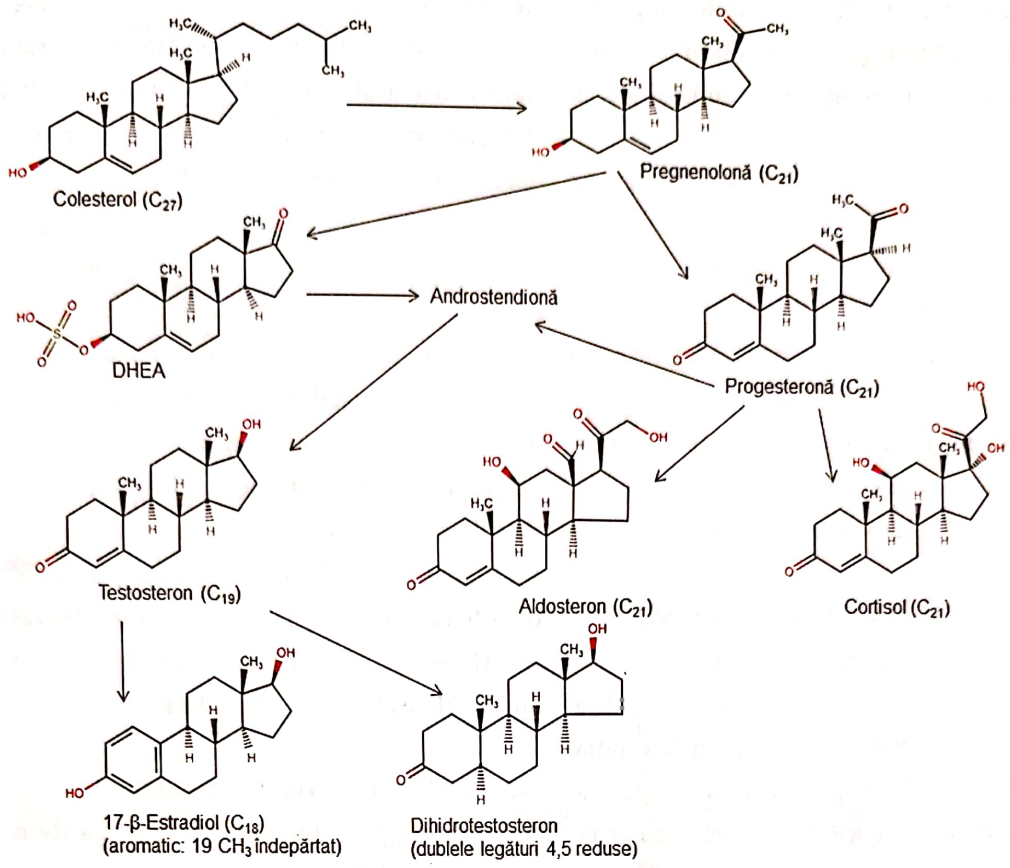


Fig. 14.24. Sinteza hormonilor steroizi (modificată după Marks, 2005)

migrarea leucocitelor, fagocitoza, edemul etc.)0 precum și procesele inflamatorii tardive (proliferarea capilară și a fibroblastelor, depunerea de colagen și formarea cicatricei). Acțiunea antiinflamatorie este realizată și prin inhibiția prostaglandinelor, cicloxigenazei 2 (COX_2) și Nitric Oxid Sintaza 2 (NOS_2).

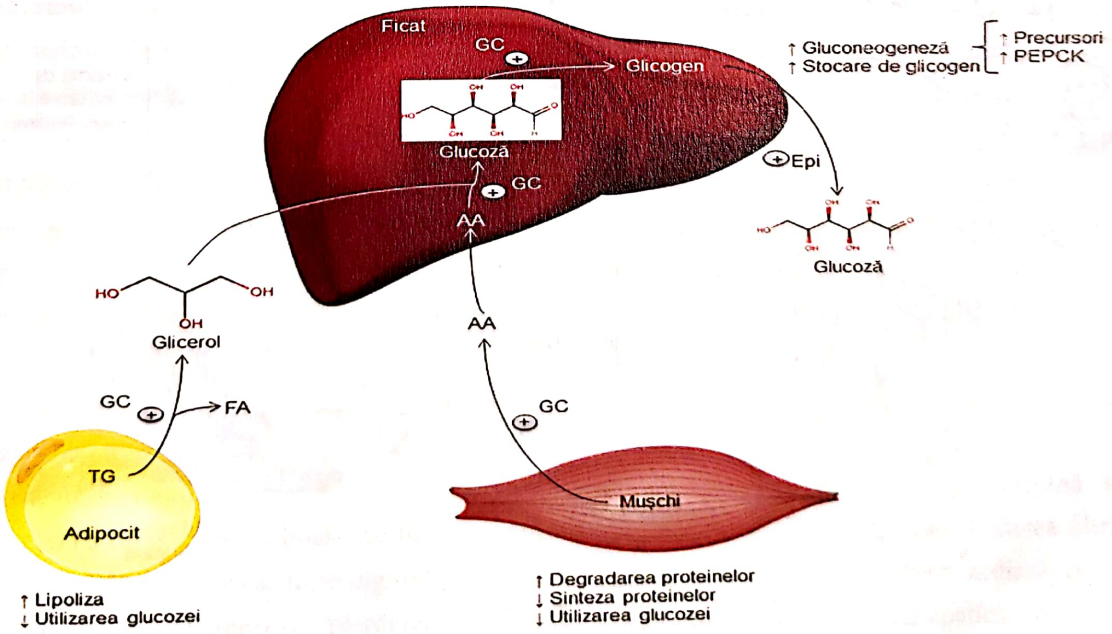


Fig. 14.25. Modul de acțiune al glucocorticoizilor (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

Glucocorticoizii prezintă și efecte imunosupresive prin prevenirea acțiunii sistemului imun umoral și celular, precum și prin inhibarea producției de citokine.

Hormonii mineralocorticoizi sunt reprezentați în special de aldosteron, are drept precursor colesterolul și este transportat prin sânge legat de serumalbumină de unde difuzează în citoplasma celulelor țintă cu ajutorul receptorilor specifici. La acest nivel stimulează sinteza de proteine specifice cu schimbarea fluxului de Na^+, K^+, Mg^{2+} și apă, de o parte și de cealaltă a membranei celulelor țintă.

Aldosteronul participă astfel la menținerea homeostaziei hidrice și electrolitice.

Aldosteronul acționează la nivelul tubilor renali distali și colectori, determinând *reabsorbția ionilor de sodiu, secreția ionilor de potasiu și a protonilor*. Apa urmează pasiv transferul de sodiu, hipersecreția de aldosteron având drept consecință o creștere a volumului circulant cu apariția hipertensiunii arteriale secundare.

Controlul secreției de aldosteron este realizat prin mecanisme distincte, cel mai important fiind sistemul renină - angiotensină - aldosteron (Fig. 6.26).

Renina este o protează secretată de aparatul juxtaglomerular al rinichiului și eliberată în circulația sanguină ca răspuns la scăderea volumului sanguin circulant și la pierderile de sodiu.

Aceasta are ca substrat angiotensinogenul (o α2-globulină sintetizată de către ficat) pe care îl transformă în angiotensină I. *Angiotensin converting enzime* (ACE) este o peptidază prezentă în cantitate mare la nivelul capilarelor pulmonare, ea transformă angiotensina I în angiotensină II. Angiotensina II are acțiune vasoconstrictoare și stimulează secreția de aldosteron, (Fig. 6.27).

Un alt mecanism de control al secreției de aldosteron este reprezentat de concentrația ionilor de potasiu. Hiperkaliemia stimulează secreția de aldosteronă, scăderea kaliemiei inhibând-o.

Patobiochimia corticosuprarenalei

Hiperfuncția corticosuprarenalei urmată de o producție crescută de cortizol poartă numele de *sindrom Cushing* care prezintă manifestări clinice precum: obezitate tronculară, facies în lună plină, hiperten-

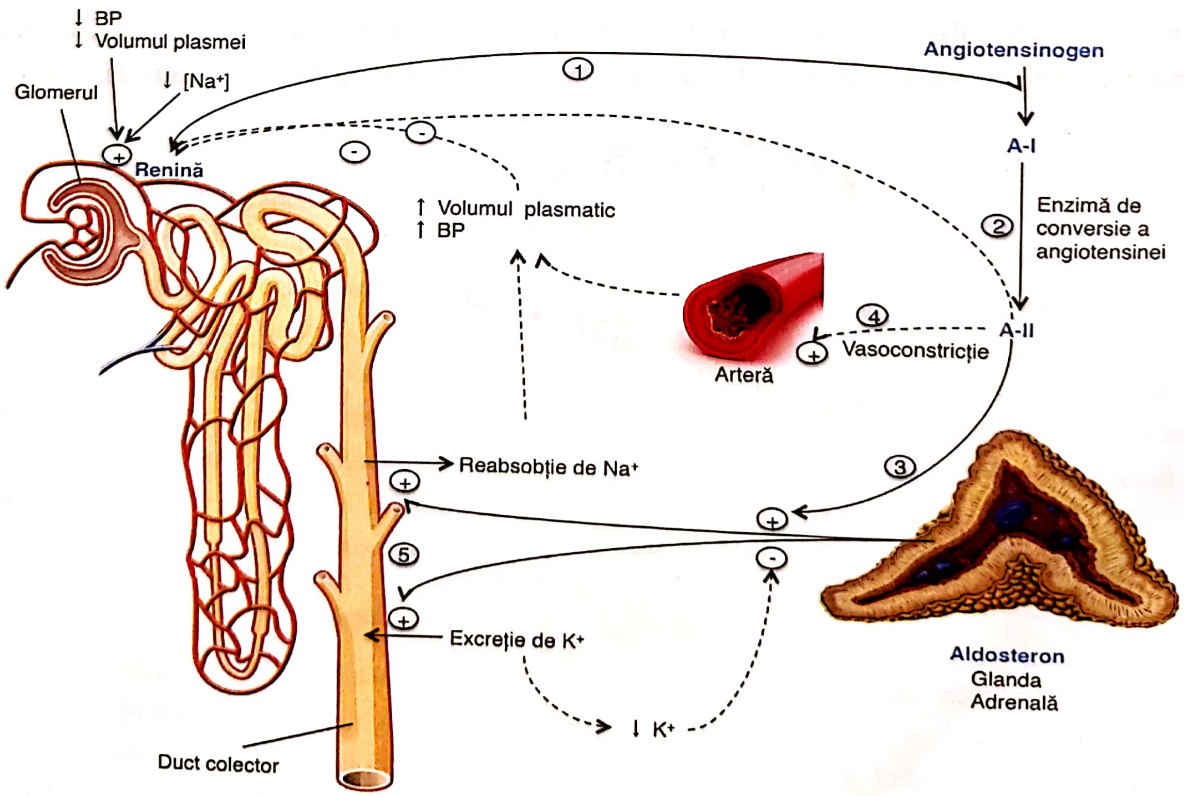


Fig. 14.26. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

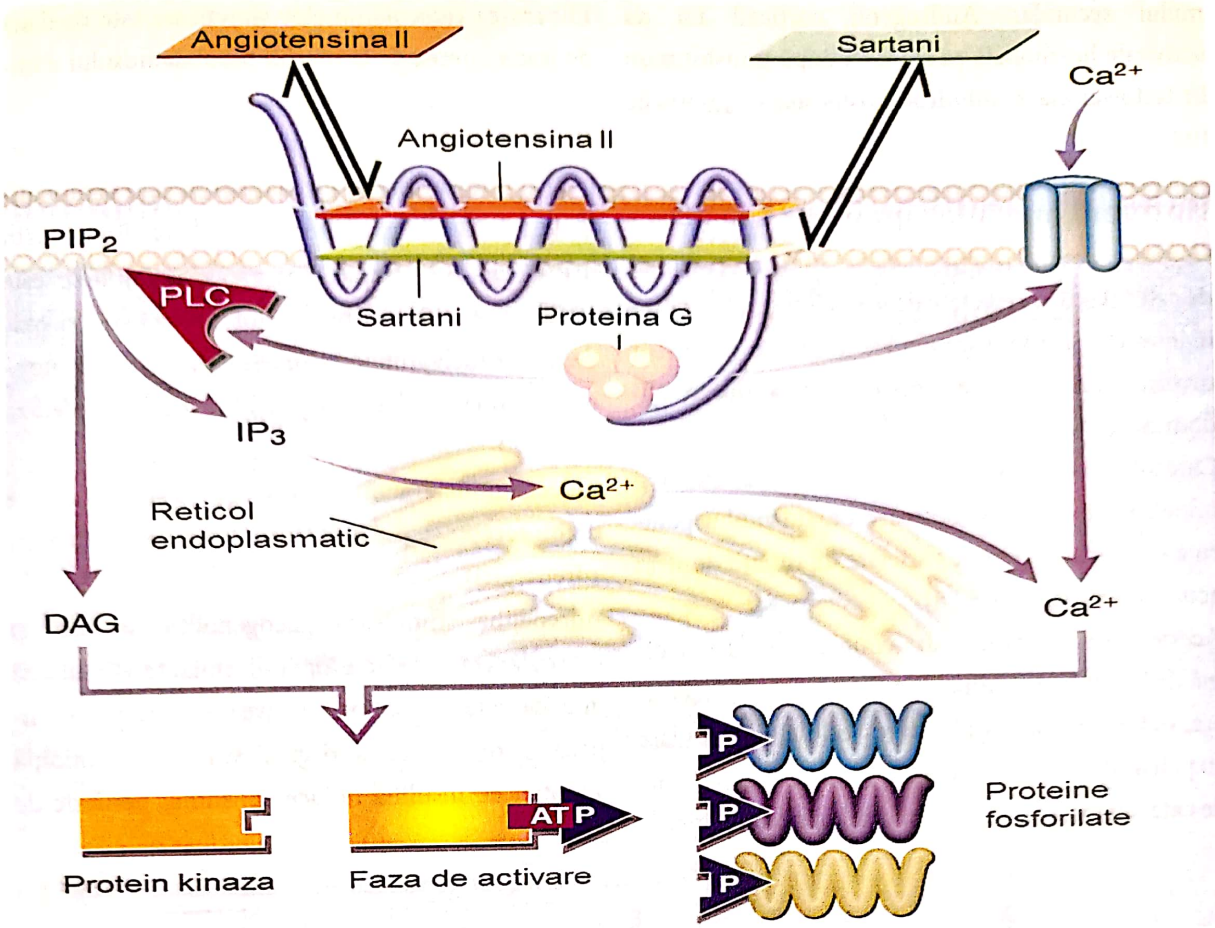


Fig. 6.27. Calea de semnalizare a angiotensinei II; Receptorul pentru angiotensina II este inserat în membrana celulară și este cuplat cu proteina G. Mediatori finali sunt Ca^{2+} și diacilglicerol (DAG).

siune arterială, tulburări menstruale, miopatie etc.

Sindromul Cushing poate fi provocat iatrogen prin administrare de ACTH sau glucocorticoizi.

Cauzele hipersecreției de cortizol pot fi determinate de:

- hipersecreția de ACTH ce caracterizează boala Cushing,
- prin hipersecreție de cortizol de la nivelul corticosuprarenalei (adenoame, carcinoame).

Hipofuncția corticosuprarenalei poate fi primară datorată incapacității glandei de a secreta cantități suficiente de hormoni.

Acest lucru caracterizează boala Addison, manifestată clinic prin: oboseală, hiperpigmentarea pielii, scădere în greutate, anorexie, pierderea părului de pe corp, hipoglicemie, hiperazotemie și tulburări ale echilibrului acido-bazic.

În insuficiența corticosuprarenaliană secundară se înregistrează un nivel scăzut atât a ACTH-ului cât și al cortizolului.

Hiperaldosteronismul se caracterizează printr-o producție crescută de aldosteron. Aceasta se poate fi:

- primar (sindromul Conn) cauzat de în majoritatea cazurilor de adenoame suprarenaliene sau de o hiperplazie corticală nodulară bilaterală. Boala se caracterizează prin hipertensiune datorată retentiei de sodiu ce determină creșterea volumului sanguin. Secreția tubulară de potasiu și protoni conduce la alcaloză hipokaliemică.
- secundar unui stimul ce determină secreția crescută de alosteron, precum scăderea filtrării renale a sodiului (insuficiența cardiacă congestivă, sindromul nefrotic, ciroza hepatică, stenoza arterei renale). Utilizarea diureticelor determină depleția lichidiană și în consecință apariția hiperaldosteronis-

Scanned with OKEN Scanner

mului secundar. Androgenii corticali nu au activitate hormonală ca atare, ci după transformare în testosteronă şi dihidrotestosteronă în ţesuturile ţintă.

Hormonii medulosuprarenalieni

Hormonii medulosuprarenalieni sunt reprezentaţi de catecolamine secretate de la nivelul celulelor cromafine ale glandei suprarenale având ca precursor tirozina. transpiraţii, atacuri de panică, durere abdominală.

Catecolaminele sunt reprezentate de adrenalină şi noradrenalină şi sunt necesare organismului pentru a se adapta la o mare varietate de situaţii de stres acut sau cronic, (Fig. 6.28).

Aceste impulsuri stimulează eliberarea de acetilcolină de la nivelul terminaţiilor nervoase preganglionare, determinând depolarizarea celulelor medulare cu pătrunderea Ca2+ în citosol şi stimularea secreţiei de catecolamine de la nivelul celulelor cromafine.

Eliberarea catecolaminelor sintetizate este mediată de transmiterea de la nivelul hipotalamusului a impulsului nervos stres-mediat.

Catabolismul catecolaminelor are loc la nivel hepatic prin transformarea adrenalinei în acid vanilmandelic, formă sub care catecolaminele se elimină prin urină (Fig. 6.29.). Inactivarea catecolaminelor este realizată cu ajutorul proceselor de metilare şi oxidare, enzimele implicate în acest proces fiind monoaminoxidaza (MAO) şi catecol-o-metil transferaza (COMT).

Catecolaminele actionează asupra ţesuturilor care deţin receptori pentru aceşti hormoni (receptori adrenergici).

Adrenalina stimulează glicogenoliza hepatică şi musculară având efecte hiperglicemiante, stimulează lipoliza în tesutul adipos (activează triacilglicerol lipaza) şi furnizează acizi graşi şi glicerol. Inhibiţia secreţiei de insulină reduce consumul periferic de

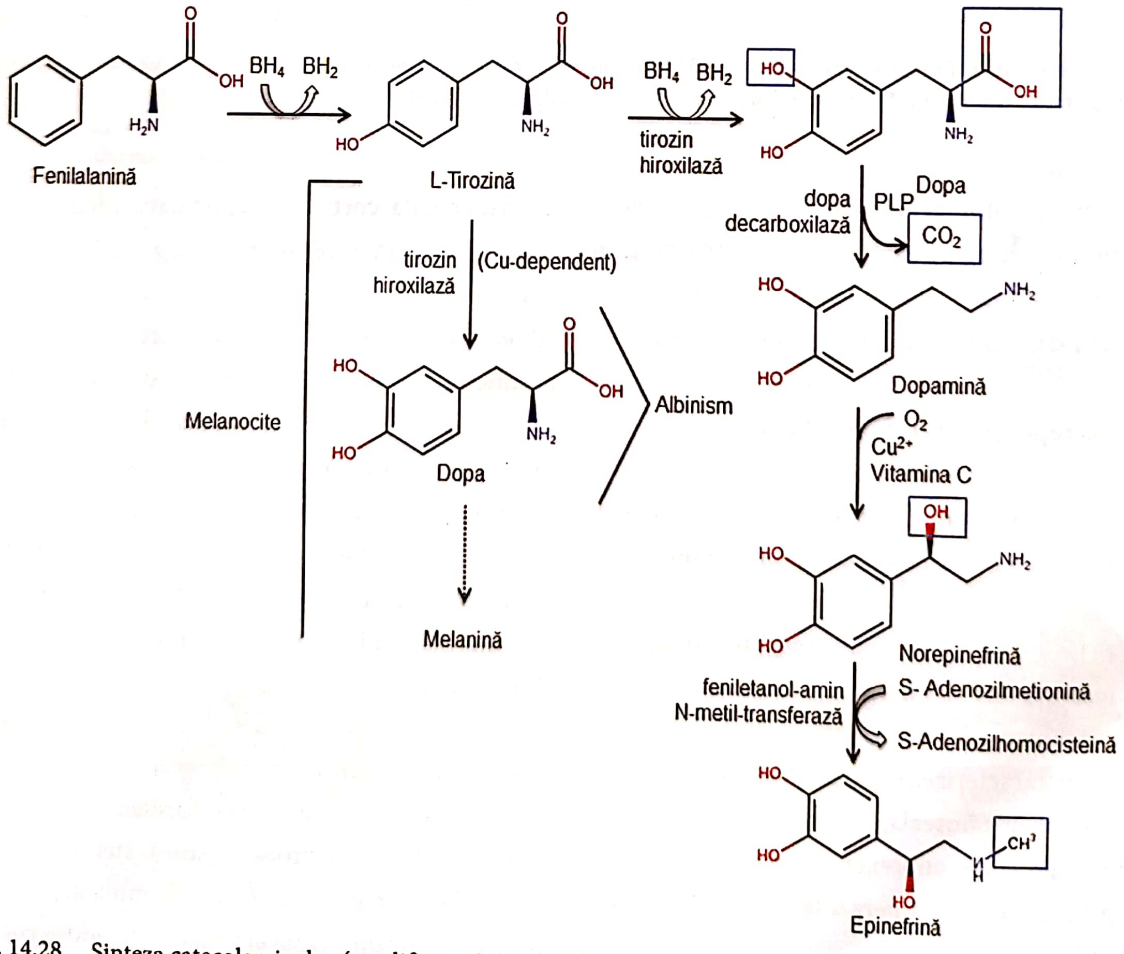


Fig. 14.28. Sinteza catecolaminelor (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

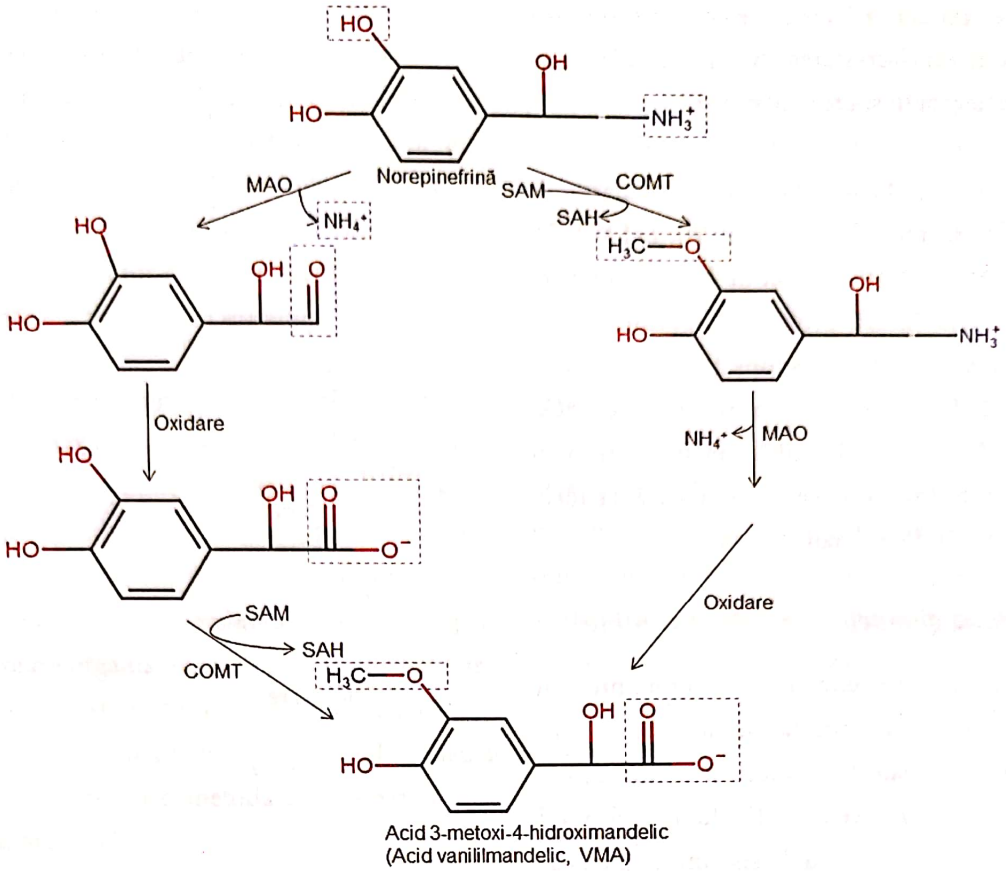


Fig. 14.29. Catabolismul catecolaminelor (modificată după Marks, 2005)

glucoză, acesta rămânând disponibilă pentru creier. Prin acţiunea lor asupra sistemului circulator (stimulează activitatea cardiacă, are efect vasodilatator asupra muşchilor scheletici şi vasoconstrictor asupra capilarelor), asupra bronhiilor, tractului digestiv, asigură adaptarea organismului la agresiuni externe sau interne.

Patobiochimia medulosuprarenalei

Feocromocitomul este o tumoră a glandei medulosuprarenale care secretă adrenalină şi/sau noradrenalină în exces, caracterizat prin eliminarea crescută a acestora şi a metaboliţilor lor prin urină.

Manifestările clinice sunt reprezentate de pusee episodice de *hipertensiune arterială, palpitaţii, cefalee,*

Hormonii sexuali

Androgenii sunt hormoni sexuali masculini sintetizaţi de către celulele Leydig din testicul. Principalul hormon androgen testicular este reprezentat de testosteron care este secretat sub controlul hormonului luteinizant LH eliberat de hipofiză. Celulele Sertoli secretă proteine specifice precum androgen binding protein (ABP) şi inhibină.

Biosinteza testosteronului are drept precursor progesteronul care la rândul său este derivat de la colesterol (vezi schema de sinteză a hormonilor steroizi). Testosteronul este eliberat în sânge, la acest nivel circulă legat de o proteină transportoare precum sex-hormon binding protein (SHBG) sau testosteron-estrogen binding globulin (TEBG) şi doar o mică parte se află liberă ca formă activă. Testosteronul este transformat la nivelul unor ţesuturi (prostată) într-o formă activă cu afinitate mai mare decât testosteronul – dihidrotestosteron (DHT). Sub acţiunea aromatazei testosteronul este transformat în estradiol. La nivelul ţesuturilor ţintă acesta este responsabil de dezvoltarea şi funcţionarea organelor sexuale, apariţia şi dezvoltarea caracterelor sexuale secundare. Totodată, stimulează procesul de creştere,

Scanned with OKEN Scanner

stimulează sinteza proteică (efect anabolizant), determinând astfel creșterea masei musculare și a scheletului, au rol în spermatogeneză.

Reglarea secreției de testosteron se realizează cu ajutorul axei hipotalamo-hipofizo-testiculare, de către GnRH (secretat de hipotalamus), LH și FSH. FSH stimulează celulele Sertoli de la nivelul testicului care sintetizează proteine implicate în pro ducția spermei și inhibină responsabilă de inhibarea secreției de FSH printr-un mecanism de feed-back, (Fig. 6.30). LH stimulează celulele Leydig din testicul care produc testosteron, care stimulează celulele Sertoli promovând spermatogeneza.

Patobiochimia glandelor sexuale masculine

Deficitul sintezei și secreției de testosteron, precum și al spermatogenezei poartă numele de hipogonadism. Acesta poate fi de cauză primară, defectul fiind localizat la nivelul testiculului (sidromul Klinefelter, infecții virale, boli sistemice, medicamente citotoxice) sau secundare, în care defectul este la nivel hipotalamic sau hipofizar (disfuncții hipotalamo-hipofizare, prolactinoame, hemocromatoza).

Ginecomastia reprezintă dezvoltarea patologică a sânilor la bărbat și se datorează unei secretii crescute de estrogeni (tumori endocrine) și a unei producții scăzute de androgeni (hipogonadism).

Hormonii sexuali feminini sunt secretați de ovar și sunt reprezentați de estrogeni și progesteron. Estrogenii sunt sintetizați prin aceleași reacții intermediare ca și androgenii. Androgenii sunt transformați în estrogeni sub acțiunea aromatazei.

Hormonii sexuali feminini se secretă în cadrul unui proces ciclic ce durează 28 de zile, care cuprinde două faze:

- faza foliculară în care predomină secreția de estrogeni care atinge maximul la momentul ovulației (ziua 14) și este reglată de către FSH;
- faza luteală – fază secretorie în care predomină secreția de progesteron se află sub controlul hipofizei prin LH. Această fază se instalează după momentul ovulației când foliculul rupt se transformă în corp galben. Progesteronul este secretat de corpul galben

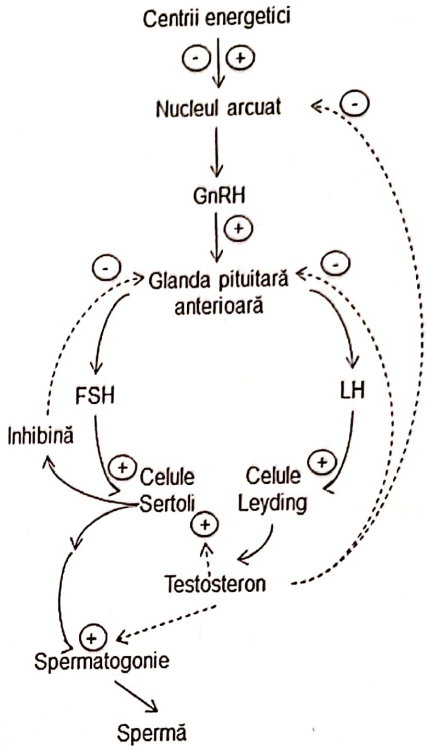


Fig. 6. 30. Reglarea spermatogenezei (modificată după Marks, 2005)

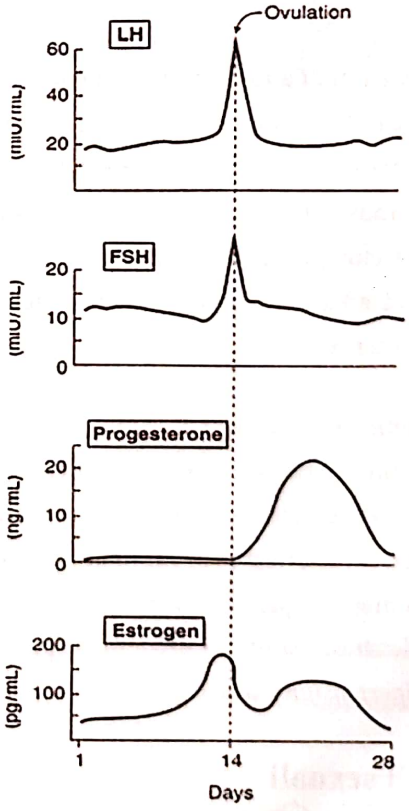


Fig. 6.31. Nivelul hormonal în timpul ciclului menstrual (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

și în cantități mici și de către placentă, glanda suprarenală și testicule, (Fig. 6.31.).
Estrogenii circulă prin sânge legați de SHBG și nespecific de albumină, progesteronul circulă prin sânge legat de albumină. După îndeplinirea functiilor biologice ei sunt catabolizați și eliminați prin urină sub forma unor compuși glucurono sau sulfoconjugați.

Hormonii ovarieni controlează dezvoltarea aparatului reproducător feminin, apariția și menținerea caracterelor sexuale secundare, reglează ciclul ovarian, fecundația, gestația, nașterea și lactația. Estrogenii și progesterona actionează fie sinergic, fie antagonist.
Progesteronul este responsabil de creșterea temperaturii bazale a organismului, ce are loc imediat după ovulație și persistă în timpul fazei luteale a ciclului menstrual. Măsurarea temperaturii bazale (imediat la trezire) reprezintă o metodă de estimare a momentului ovulației.

Schimbările hormonale în timpul sarcinii

Dacă apare fertilizarea, imediat după ovulație, corpul luteal este menținut de către gonadotropina corionică umană (hCG) secretat inițial de către trofoblaștii embrionului în dezvoltare. Pe măsură ce se dezvoltă placenta, aceasta secretă hCG și progesteron, (Fig. 6.32).

Patobiochimia organelor sexuale feminine

Amenoreea reprezintă absența completă a menstruației timp de cel puțin 6 luni, scăderea frecvenței sau a volumului menstrelor poartă numele de oligomenoree.
Amenoreea poate avea cauză primară (absența uterului sau ovarelor, boli genetice, sindromul de testicul feminizant) sau cauză secundară ce survine după o perioadă de menstruații normale. Cea secundară se datorează afecțiunilor hipotalamice (tumori, anorexie nervoasă), hipofizare (hiperprolactinemia, tumori hipofizare), alte afecțiuni endocrine (ovar polichistic, tumori secretante de estrogeni etc.).
Amenoreea conduce la infertilitate, poate exista infertilitate și la femei cu cicluri menstruale normale (anomalii anatomice, defect al fazei luteale, cicluri anovulatorii).
Hirsutismul se caracterizează prin creșterea excesivă a părului în locuri care sunt caracteristice bărbaților

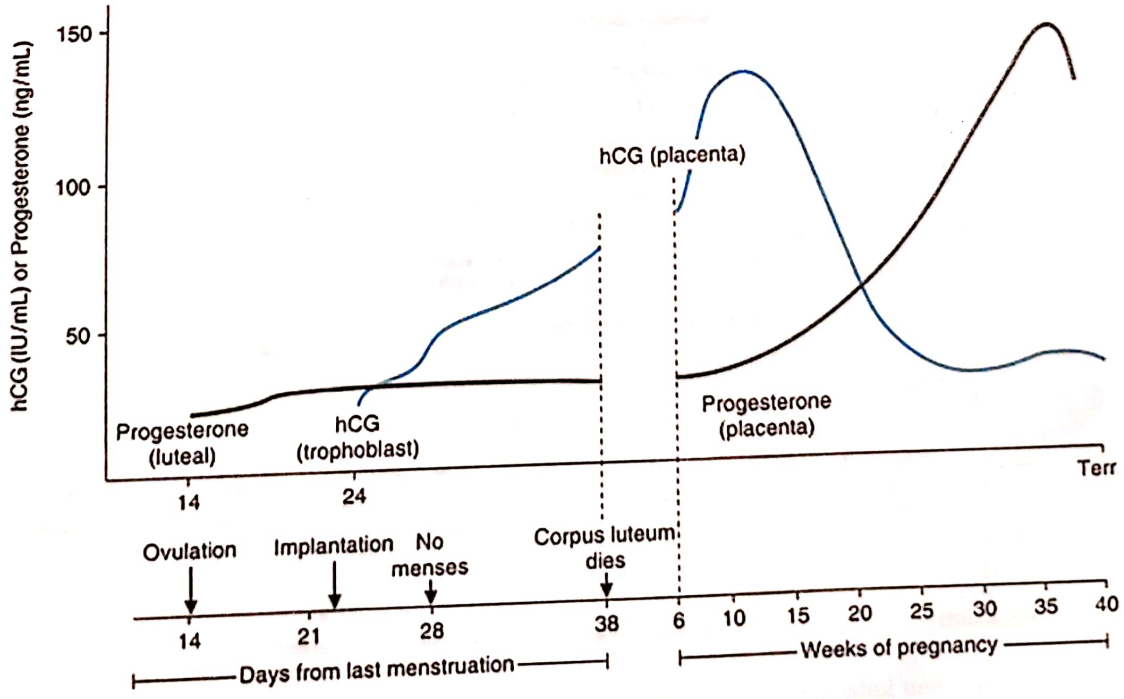


Fig. 14.32. Nivelul hormonal în timpul sarcinii (modificată după Marks, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

(abdomen, piept, față). Virilizarea se caracterizează prin manifestări ale excesului de androgeni precum: creșterea masei musculare, atrofia sânilor, îngroșarea vocii, absența sau oprirea menstrei.

Cauzele cele mai frecvente sunt: ovariene (ovar polichistic), suprarenaliene (sindrom Cushing, hiperplazia congenitală a suprarenalei), medicamente anabolizante, menopauza, acromegalia, hiperprolactinemia etc.

Estrogenii sunt produși de placentă din adrogenii secretați de mamă și făt. Expulzia fătului survine în jurul saptămânii 40 de gestație, oxitocina stimulează contracția uterină.

Bibliografie:

Shlomo Melmed. Acromegaly. N. ENGL J MED 355; 24. Decembrie 2006.

C. Smith, A. Marks, M. Liebermann. Basic Medical Biochemistry. A clinical approach. Lippincot William & Wilkins, S.U.A, 2005.

V. Dinu, E. Truția, E. Popa Cristea, A. Popescu. Biochimie medicală. Mic tratat. Ed. Medicală, București, 1998.

A. Anghel, D. Grecu, A. Mihala, F. Sfrijan, M. Motoc, L. Tămaș, D. Narița. Biochimie clinică, Principii și aplicații. Pentru studenții facultăților de medicină. Ed. Eurostampa, Timișoara, 2006.

Wikipedia: https://en.wikipedia.org/

Scanned with OKEN Scanner

15. NOȚIUNI DE BIOCHIMIE INTEGRATIVĂ

I. Reglarea hipotalamică a metabolismului energetic

Scăderea concentrației glucozei din circulație are acțiuni multiple în organism actionând atat direct asupra celulelor de tip alfa din pancreas cu eliberare de glucagon în circulatie dar și asupra unor centri nervoși localizați în special în hipotalamus, determinând eliberarea de norepinefrină (Nota: adrenalina = epinefrina și noradrenalina = norepinefrina). Scăderea concentrației glucozei din circulație induce de asemenea secreția de ACTH (adrenocorticotropină) din hipofiza care la rândul lui eliberează hormonii cortisol și epinefrina din glanda suprarenală.

Rolul canabinoizilor în reglarea greutații corporale

Marihuana și componentul sau major psihotropic, *delta-tetrahidrocanabinolul*, stimulează apetitul și creșterea greutății corporale și de aceea poate fi utilizat în sindromul de slăbire (*wasting syndrome*), sugerând că receptorul canabinoid (CB1) și liganzii săi endogeni, endocanabinoizii, sunt implicați în controlul balanței energetice. Sistemul endocanabinoid stimulează aportul de mâncare prin mecanisme centrale și periferice și poate stimula lipogeneză și acumularea de grăsimi.

Compusul natural delta-tetrahidrocanabinol, derivat din *Cannabis sativa*, este responsabil pentru efectele psihotrope ale marijuanei și a fost folosit în medicina înainte ca mecanismul de acțiune să fie cunoscut. Efectele antiemetice și stimulante ale apetitului au fost cunoscute de secole, dar numai în ultima jumatate de secol au fost asociate cu delta-tetrahidrocanabinolul. Acești compuși, ca și analogul său sintetic, nabilonul, au fost prescriși la jumătatea anilor '80 pentru a ameliora vărsăturile și senzația de vomă în cazul

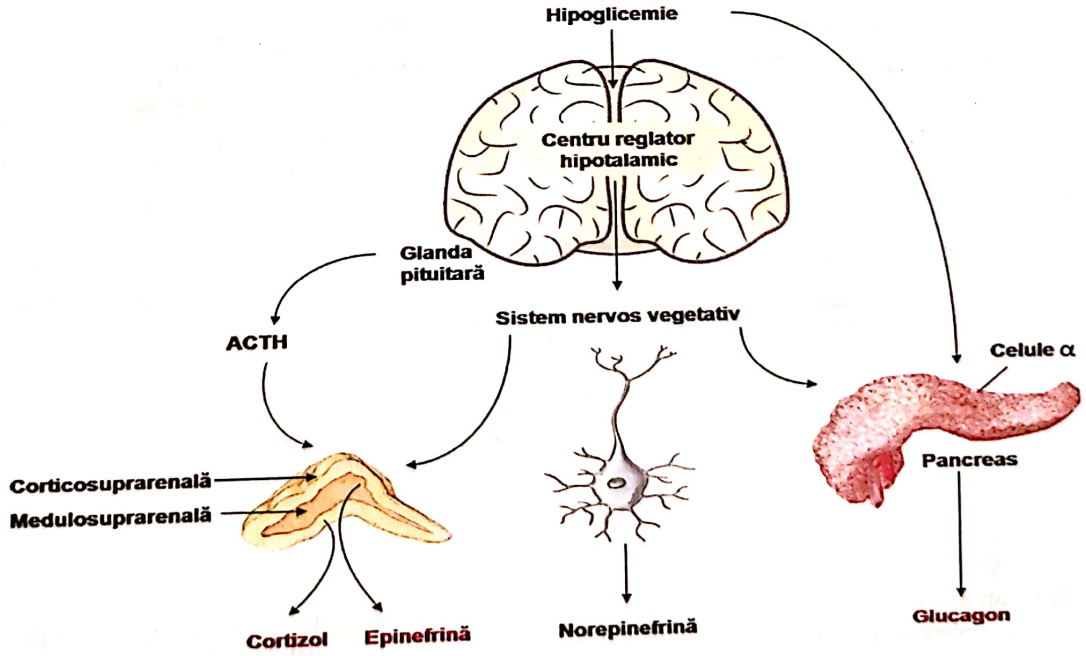


Fig. 15.1. Reglarea la nivel de hipotalamus a metabolismului energetic prin intermediul unor hormoni ca: glucagonul, norepinefrina, epinefrina și cortisolul.

Scanned with OKEN Scanner

pacientilor cu cancer iar din 1992 se prescriu pentru a preveni pierderea în greutate la pacienții cu SIDA. Acizii grasi ω6-polinesaturați obținuti din hrană (*ω6-polyunsaturated fatty acids; ω- PUFAs*) sunt încorporați în membrane sub forma de fosfolipide și pot fi ulterior metabolizați la doi compuși endocanabinoidici majori, 2-arachidonoilglicerol (2-AG) și anandamida de către enzime asociate cu membrana celulară. Leptina poate influenta biosinteza de endocanabinoizi prin inhibiția formarii compusului 2-AG în hipotalamus dar și prin stimularea degradării anandamidei în neuronii post-sinaptici (Fig. 15.2). Receptorul canabinoid CB1 este localizat predominant presinaptic, permițind astfel acțiunea retrogradă a endocanabinoizilor Stimularea receptorilor CB 1 influențeaza expresia mediatorilor orexigenici și anorectici la nivelul hipotalamusului (Fig. 15.2).

Rolul acizilor grași în homeostazia energetică

Acizii grași cu catenă lungă (*plasma long-chain fatty acids, LCFAs*) sunt de obicei complexați cu albumine serice și trec de bariera hematoencefalică prin simpla difuzie. Alte surse de acizi grasi sunt chilomicronii din circulație precum și alte lipoproteine. După intrarea în celulă acidul gras este esterificat rapid la acil-CoA sub acțiunea enzimei acil-CoA sintetaza. Concentrația de acizi liberi din citoplasmă este determinată de vitezele de esterificare și hidroliza

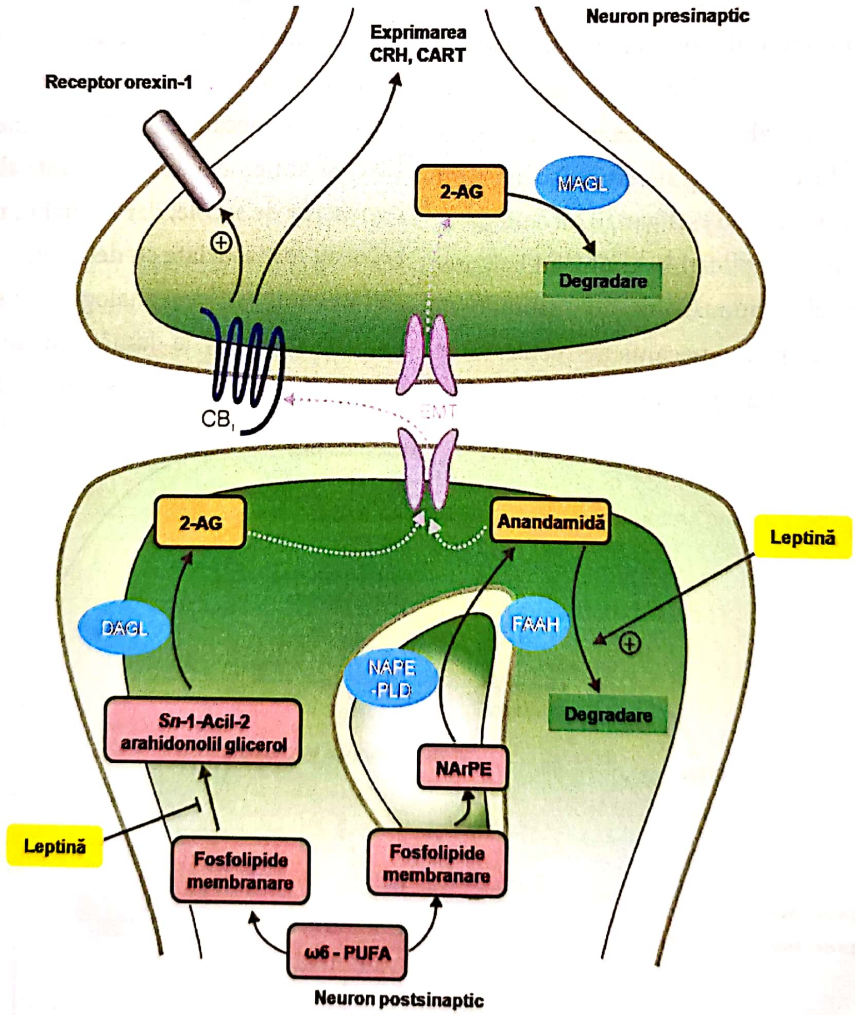


Fig. 15.2. Sistemul endocannabinoidic în neuroni. CB1: receptorul cannabinoid; DAGL: diacilglicerol lipaza; EMT: transportori de membrană endocannabinoidici; FAAH: amidhidrolaza acizilor grași; MAGL: monoacil glicerol lipaza; NArPE: N-arachidonoil-fosfatidil- ethanolamine; NAPE-PLD: Fosfolipaza D N-acil-fosfatidill-etanolamina–selectivă D; CRH: hormon eliberator de corticotropina; CART: factor de transcripție cocaina-amphetamina–regulatoare. Inhibiția este indicată prin linii barate (după Tony et al., Nature Neurosciences 8, 585-589, 2005).

Scanned with OKEN Scanner

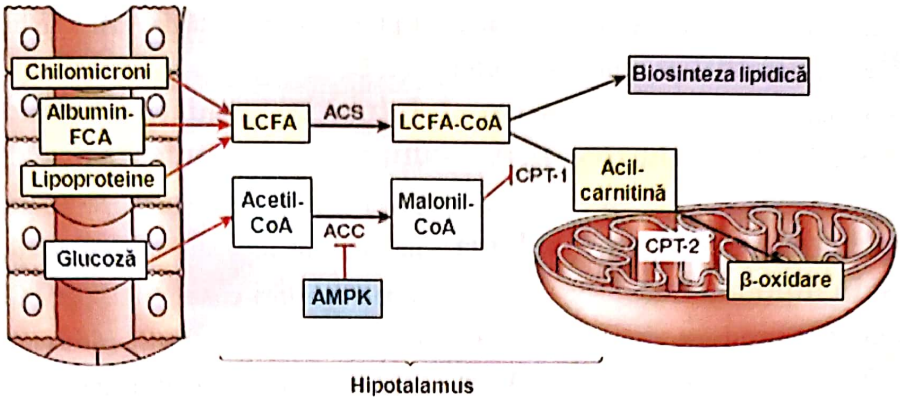


Fig. 15.3. Importul şi metabilismul acizilor graşi liberi în hipothalamus. Formarea malonil-CoA din acetil-CoA este catalizată de enzyma acetil-CoA carboxilaza (ACC), care este alosteric inhibată prin fosforilarea de către protein kinaza activată de AMP (AMPK) (modificat după Tony et al., Nature Neuroscience 5: 579-584, 2005).

a esterilor acizilor graşi precum şi de procesele de oxidare şi căile sintetice în care sunt implicate acizii graşi.

Transferul acizilor graşi cu catena lungă esterificaţi (*long chain, LC-CoA*) în mitocondrii unde are loc oxidarea lor, necesită prezenţa a două enzime din membrana mitocondrială, care sunt dependente de carnitina şi de aceea se numesc carnitin-palmitoiltransferaze, CPT1 si CPT2.

CPT1 este localizată în membrana mitocondrial externă şi catalizează formarea de acil-carnitina cu catena lungă. Sunt cunoscute doua izoforme: forma specifica ficatului (CPT1-L; L, de la liver) codificată de gena CPT1A şi izoforma specifică muschilor (CPT1- M, M de la muscle) codificată de gena CPT1B (Fig. 15. 3). Oxidarea mitocondrială a grăsimilor este reglată de concentraţia de malonyl-CoA, un inhibitor potent al activităţii compusului CPT1. În cea mai mare parte *malonyl-CoA* este derivată din acetyl-CoA, produsul final al glicolizei; de aceea această cale biochimică este ideal poziţionată pentru a monitoriza nivelul celular al carbohidraţilor şi lipidelor.

Acizii graşi cu catenă lungă (*long chain fatty acids, LCFA*) semnalizează statusul nutriţional către centrii energetici din hipotalamus. Creşteri fiziologice în concentraţia acizilor graşi circulanţi cu catenă lungă (LCFA) poate induce o dublare a cantităţii de LCFA-CoA în hipotalamus şi poate genera un semnal metabolic care indică un exces energetic. Această creştere poate fi prevenită prin infuzie de triascina C (Tri-C), un inhibitor farmacologic al acil-CoA sintetazei (acyl-CoA synthase, ACS).

Esterificarea LCFA la LCFA-CoA este de asemenea un pas obligatoriu pentru efectele hipotalamice

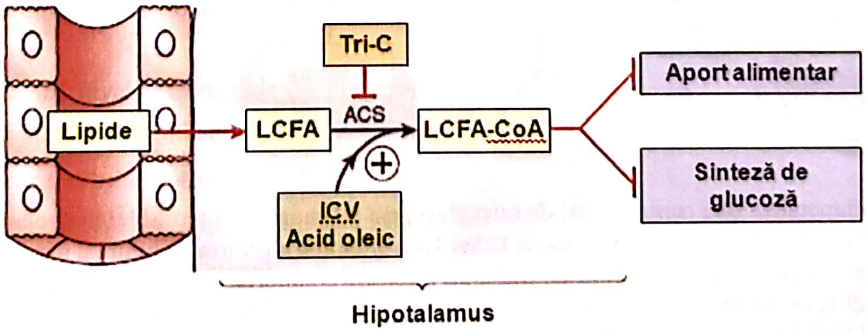


Fig. 15.4. Concentraţia acizilor graşi cu catena lungă (long chain fatty acids, LCFA) semnalizează statusul nutritional al corpului către centrii energetici din hipotalamus (modificat după Tony et al., Nature Neuroscience 5: 579-584, 2005)

Scanned with OKEN Scanner

ale LCFA în reglarea sintezei hepatice de glucoză. Administrarea intracerebrovasculară (icv) de acid oleic (un LCFA) este suficientă pt a inhiba aportul alimentar şi producţia hepatică de glucoză fara a afecta concentraţia LCFA din circulaţie (Fig. 15.4).

Reglarea saţietăţii are loc prin oxidarea acizilor graşi în hipotalamus

În conditii fiziologice, oxidarea cizilor graşi este reglată în special de concentraţia malonyl-CoA, un inhibitor puternic al enzimei CPT1 şi care indirect reglează intrarea LCFA-CoA în lantul oxidativ (Fig. 15.5a).

O enzima cheie în reglarea comportamentului alimentar este *AMP-activated protein kinaza* (AMPK). Modularea activităţii AMPK induce schimbări în comportamentul modului de hrănire. De exemplu, o diminuare a activităţii AMPK inhibă procesul de hranire şi activează enzima acetil-CoA carboxilaza (ACC) cu formare de malonil-CoA (Fig. 15.5b). Probabil că acest effect anorexic se datorează inhibiţiei carnitin palmitoiltransferazei (CPT1) din hipotalamus. Un inhibitor fiziologic al AMPK este leptina care este deci un hormon cu **acţiune anorexică**. Concluzionăm că activitatea anorexică a leptinei este mediată de AMPK în hipotalamus.

Inhibiţia oxidării acizilor graşi în hipotalamus suntează procesul de hrănire

Dacă ipoteza că acumularea celulară de LCFA este un element regulator central al aportului alimentar atunci mărirea concentraţiei de LCFA realizată prin manipulare farmacologică (de exemplu prin inhibiţia importului în mitocondrii) ar trebui să inhibe procesul de alimentare calorică. Acestă ipoteza este verificată de doi inhibitori ai sintezei acizilor graşi la pasul enzimei *fatty acid synthase* (FAS), cerulenin şi C75, care reduc cantitatea de hrană ingerată şi greutatea corporală la modele animale. Aceşti inhibitori modulează concentraţia malony l-CoA prin două mecanisme:

- accumularea de malonil-CoA în urma inhibiţiei sintetazei acizilor graşi (FAS) şi
- inhibiţia activităţii AMPK cu acumulare de malonyl-CoA din acetyl-CoA sub acţiunea ACC. Ambele mecanisme duc la acumularea de malonyl-CoA în hipotalamus care are drept consecinţă anorexia prin inhibiţia CPT1 (Fig. 15.5c).

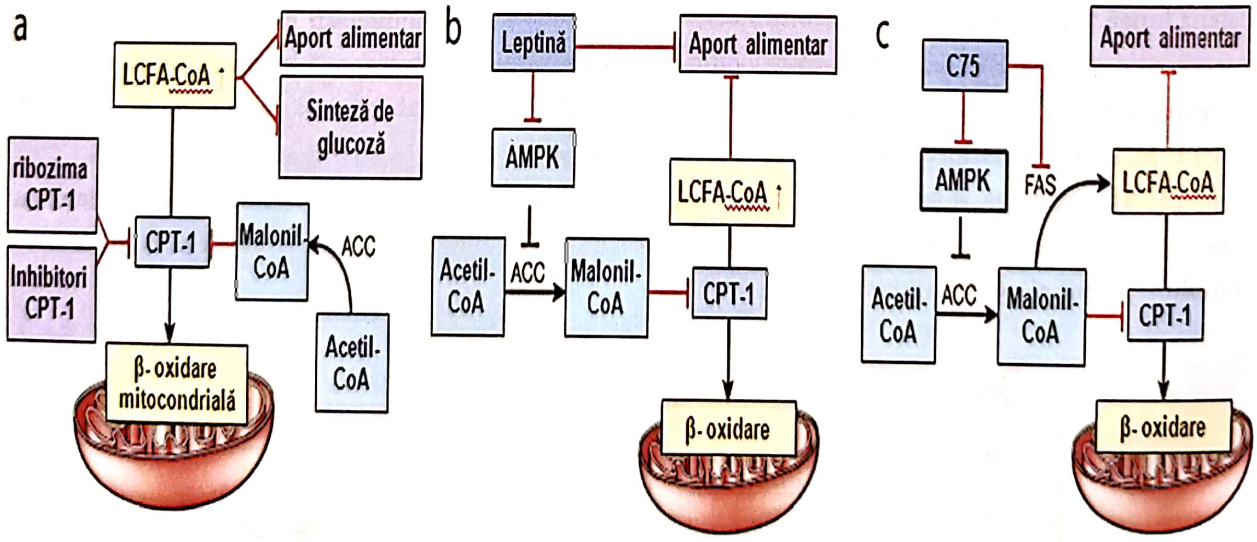


Fig. 15. 5. Reglarea hipotalamică a concentraţiei de acizi graşi prin intermediul compusului macroergic LCFA-CoA. (a): Inhibitia CPT1 în hipotalamus creşte concentraţia de LCFA-CoA şi inhibă ingerarea de hrana şi producţia de glucoză. (b) Schimbări bidirecţionale în activitatea MPK în hipotalamus afectează comportamentul de hrănire prin intermediul concentraţiei de malonil-CoA. Inhibiţia sintezei de acizi graşi reduce cantitatea de hrana ingerată. LCFA = Long Chain Fatty Acids. (modificat dupa Tony et al., Nature Neuroscience 5: 579-584, 2005).

Scanned with OKEN Scanner

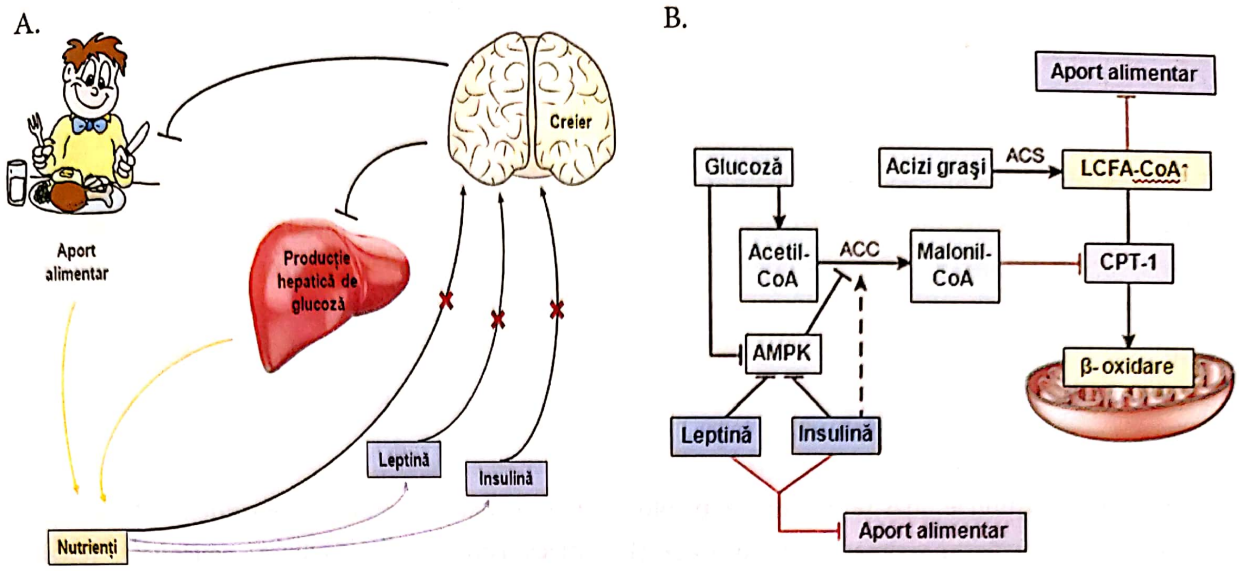


Fig. 15.6. Convergenţa semnaleleor homeostatice nutriţionale şi endocrine în hipotalamus. Acumularea intracelulară de LCFA-CoA generează un semnal anorectic iniţiat de hormonul leptina care inhibă activitatea enzimei AMPK. (după Tony et al., Nature Neuroscience 5: 579-584, 2005)

Convergenţa semnalelor nutriţionale şi endocrine în hipotalamus

Hipotalamusul are senzori de măsurare a concentraţiei acizilor graşi circulanţi pe care-i foloseşte pentru a adapta aportul hranei (caloric) la necesităţile organismului. Defecte în senzorul hipotalamic (analog cu insulina, acest sensor-receptor, poate dezvolta o "insensibilitate" în a sesiza abundenţa de nutrienţi) poate avea consecinţe nedorite pentru organism manifestate în primul rand prin obezitate (Fig. 15.6a).

Hipotalamusul este de asemenea centrul de convergenţă al semnalelor multiple homeostatice. O concentraţie ridicată de LCFA-CoA este unul din indicatorii cei mai importanţi ai statutului nutriţional semnalizând o abundenţă de acizi graşi în circulaţie.

Glucoza ne indică un nivel intracelular de *malonil-CoA* ridicat că urmare a glicolizei şi indirect prin inhibiţia AMPK care la randul sau activează enzima acetil-CoA carboxilaza (ACC). Acţiuni similare asupra sistemului AMPK-ACC au şi insulină şi leptină (Fig. 15.6b)

Posibilităti terapeutice

Oxidarea mitocondriala a grăsimilor este reglată de disponibilitatea în malonyl-CoA, un inhibitor potent al activităţii compusului CPT1. În cea mai mare parte malonyl-CoA este derivat din acetyl-CoA, produsul final al glicolizei; de aceea această cale biochimică este ideal poziţionată pentru a monitoriza nivelul celular al carbohidraţilor şi lipidelor. Formarea malonyl-CoA din acetyl-CoA este catalizată de enzyma *acetyl-CoA carboxylasa* (ACC), care este alosteric inhibată prin fosforilare de către *protein kinaza* activată de AMP (AMPK) (Fig. 15.7).

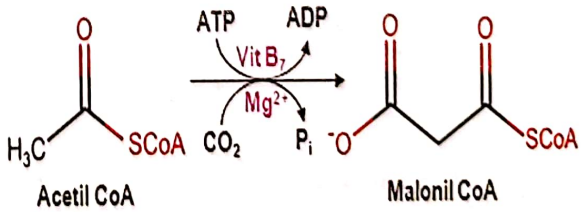


Fig. 15. 7. Trei enzime sunt ţinte terapeutice deoarece ar putea permite persoanelor să piarda din greutate în timp ce mănâncă o dietă normală. Ele sunt AMPK, ace-til CoA carboxylase (acetyl CoA carboxylase) şi sintetaza acizilor grasi (fatty acid synthase).

Scanned with OKEN Scanner

II. Reglarea neuroendocrină a presiunii arteriale

Cunoştinţele noastre despre etiologia hipertensiunii nu sunt pe deplin clarificate deşi 90% din pacientii cu hipertensiune sunt diagnosticaţi cu hipertensiune esenţială. Acest diagnostic nespecific duce la instaurarea unei terapii ineficiente şi la o problemă majoră de complianţă la tratament. Înţelegerea nivelului normal al tensiunii arteriale (TA), este importantă pentru înţelegerea şi tratamentul eficient al acestei boli. Acest capitol prezintă stadiul actual despre controlul tensiunii arteriale. Este prezentat mecanismul local al controlului tensiunii arteriale, mecanismul neuronal, mecanismul renal-endocrin dar şi o varietate de hormoni ce sunt implicaţi în controlul tensiunii arteriale. În final prezentam rolul acestor elemente în fiziopatologia tensiunii arteriale.

Chiar şi cu cunoştinţele noastre despre fiziopatologia hipertensiunii, în aproximativ 90% din cazuri etiologia e neclară şi pacientii sunt clasificaţi ca având hipertensiune esenţială. Acest lucru conduce la tratarea nespecifică a pacienţilor cu hipertensiune conducând la un numar mare de efecte secundare din cauza alegerii necorespunzatoare a terapiei. Mai mult de atât, hipertensiunea esenţială sau primară este o problema majoră pentru sănătatea publică. O pătrime din populaţia adultă a ţărilor industrializate este afectată de această boală. Surprinzător, bolile cardiovasculare s-au mutat acum în tarile dezvoltate, înregistrând o creştere a mortalităţii datorate incidentelor cartiovasculare, de la 25% în 1990 la 40% în 2020. Pe acest fond, devine esenţială înţelegerea reglării neuroendocrine a presiunii arteriale. Reglarea presiunii arteriale este o funcţie fiziologică foarte complexă, dependentă de o reţea de mecanisme cardiovasculare, neuronale, renale, şi endocrine (Fig. 15.8). Investigarea fiziopatologiei hipertensiunii necesită o bună înţelegere a factorilor responsabili de controlul presiunii arteriale şi cercetarea anormalităţilor subclinice ce preced creşterea presiunii arteriale la nivele anormale. Îmbunătătirea înţelegerii mecanismelor hipertensiunii, în special a celor ce reglează presiunea sanguină, va facilita prevenţia şi tratamentul hipertensiunii.

Privire de ansamblu. Controlul tensiunii arteriale este determinat în es-enţă de proporţionalitatea dintre fluxul sanguin într-un ţesut şi necesitaţile metabolice ale acestuia. Mecanismele locale ce controlează fluiditatea sângelui includ vasoconstricţia, vasodilataţia,

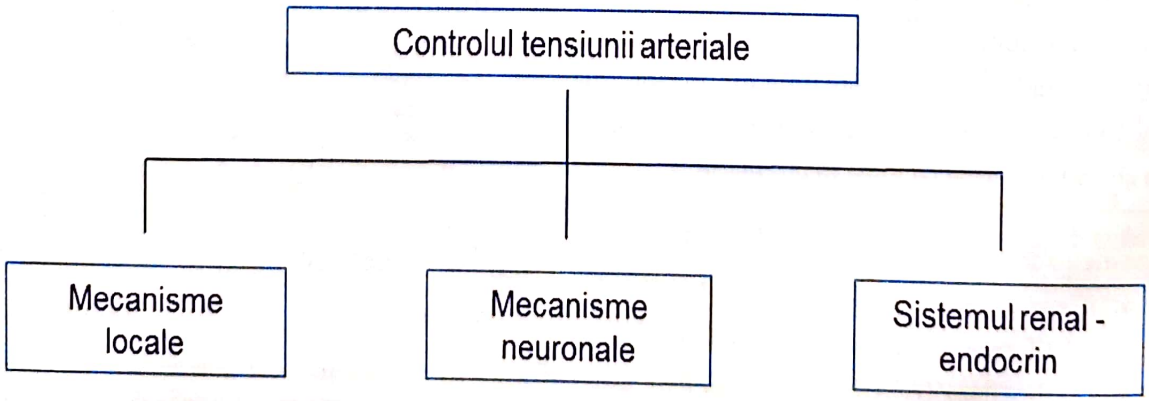


Fig. 15.8. Reglarea tensiunii arteriale la nivel de organism

Scanned with OKEN Scanner

schimbarea acută și cronica al numărului și calibrului vaselor de sânge ce alimentează țesutul. Secreţiile endoteliale autocrine joacă de asemenea un rol important în vasocontricție și vasodilatație. În plus, față de controlul local al fluxului sanguin, controlul la nivel de organism include variații ale ritmului cardiac și controlul presiunii arteriale mediat de sistemul nervos autonom. Controlul neuronal la nivel de organism al hipertensiunii arteriale este asigurat de sistemul nervos simpatic (SNS) care contribuie în primul rând la reglarea funcției cardiace. Cel mai puternic mecanism ce controlează presiunea arterială pe termen lung (săptămâni și luni) este sistemul endocrin-renal ce echilibrează fluidele corpului și este responsabil de homeostazia sărurilor, conducând la controlul hipertensiunii arteriale. Mecanismul este prezentat în Fig. 15.9. Tonusul bazal este determinat de o rețea neuronală compusă din regiunea medulară ventrolaterală (RVLM), maduvă (spinal cord, SP), hipotalamus și nucleul tractului solitar (NTS). Această rețea neuronală primește informații de la baroreceptori și

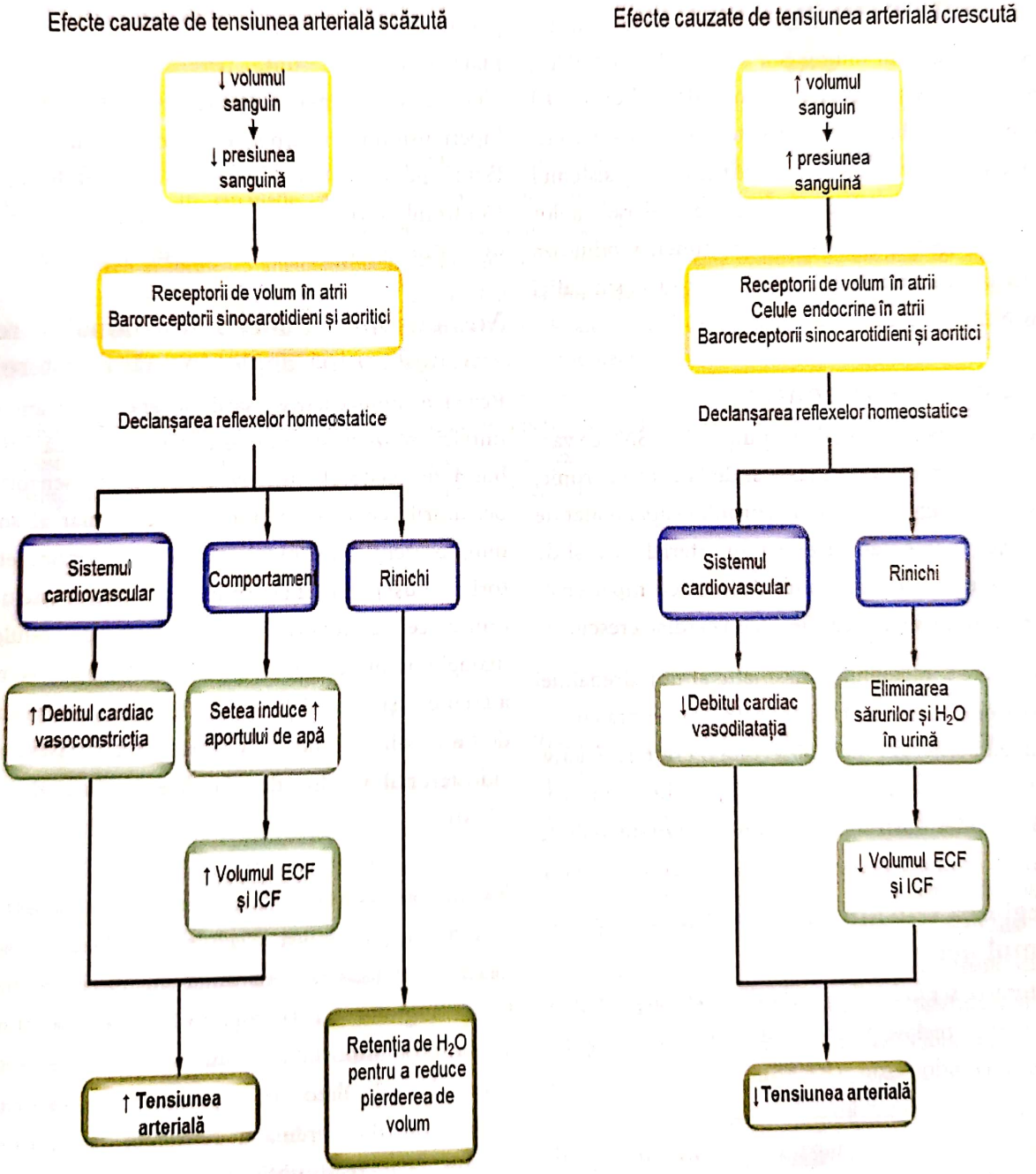


Fig. 15.9. Controlul presiunii arteriale de către Sistemul Nervos Simpatic (ECF: Fluid extracelular; ICF: fluid intracelular)

Scanned with OKEN Scanner

mecanoreceptori din regiunea cardiopulmonară (regiunea NTS); măduva spinarii primește informații despre parametrii chimici (hipoxie tisulară, substrate metabolice) și fizici (tonusul muscular). Regiunea centrală primește informații în principal de la hormonii din circulatie (angiotensina II, interleukina 1) prin intermediul formațiunilor circumventriculare (SFO) și "organum vasculosum lamina terminalis", OVLT) sau de la endoteliul vascular (prostaglandine, oxid nitric) care operează în regiunea hipotalamusului (RVLM, NTS). Rețeaua SNN este influențată și de schimbările de osmolaritate și concentrația ionilor de sodiu, care sunt detectate la nivelul multiplelor situsuri hipotalamice, precum și de prezența dioxidului de carbon (CO_2) prin intermediul chemoreceptorilor. Fiecare componentă a rețelei SNN este influențată de sistemul renina-angiotensina care crește aportul radicalilor liberi. Angiotensina II și catecolaminele modulează activitatea ganglionilor neuronali simpatici (SGNs).

Mecanismul neuronal

Exista un spectru larg de răspunsuri ale SNS ce variază de la moderat la masiv și de la acut la cronic. SNS este singurul sistem al corpului capabil atat de reglarea momentană a presiunii arteriale, cat și de susținerea acesteia. La adulții tineri cu hipertensiune se observă tahicardie, debit cardiac crescut și o creștere a nivelulului plasmatic al noradrenalinei care exercită un efect vasoconstrictor asupra circulației periferice. Este observată o creștere a activitătii simpatice la pacientii cu hipertensiune asociată cu apnee obstructivă în somn, obezitate, boli de rinichi cronice, prediabet și insuficiența cardiacă.

Reglarea tensiunii arteriale de către sistemul nervos simpatic

În timp ce schimbările presiunii sanguine pe termen scurt sunt reglate de SNS și de sistemul renina-angiotesina-aldosteron (RAAS), controlul presiunii sanguine pe termen lung este controlat de rinichi și sistemul nervos simpatic. Baroreceptorii de presiune mare din sinusul carotidian și aortic sunt răspunzători de creșterile presiunii sanguine sistemice cauzând un reflex vagal bradicardic care este mediat de sistemul parasimpatic și inhibarea simpaticului din sistemul nervos central (SNC). Receptorii cardi-opulmonari de presiune scăzută din atrii și ventricule sunt de asemenea responsabili de creșterea fluxului atrial cauzând tahicardie prin inhibarea SNS cardiac, crescând eliberarea factorului "atrial natriuretic pep-tide" (ANP) și inhibând eliberarea de vasopresina. Reglarea simpatica joacă de asemenea un rol impor-tant în reglarea presiunii arteriale pe termen lung. Cel mai important stimul pentru eliberarea reninei în aparatul juxtaglomerular sunt nervii simpatici renali. Unele din cele mai puternice evidente clinice ale hipertensiunii neurogene provin din studii făcute pe pacienți cu apnee obstructivă în somn. Controlul normal al presiunii arteri-ale de către SNS este rezumat in Fig 15.9.

Mecanismul endocrin/hormonal - renal

Sistemul renină-angiotensină-aldosteron

Reglarea homeostaziei sării și apei la mamifere implică senzori și controale care operează într-o buclă de feedback negativ. Astfel avem senzori ai perfuzării renale și ai transferului tubular al sodiului, prezenți în rinichi, respectiv hormoni efectori produși de organele endocrine. Renina este unul dintre cei esențiali, fiind eliberată de celule-le juxtaglomerulare care căptușesc arteriolele re-nale aferente și celulele învecinate ale maculei densa din tubul distal. De asemenea, aldosteronul produs de glandele suprarenale (Fig 15.10).

Enzima de conversie a angiotensinei situată pe membrana plasmatică a celulelor endoteliale, scindează 2 aminoacizi din angiotensina I, pentru a forma angiotensina II (Fig. 15.11). Angiotensina II are un rol important în menținerea homeostaziei sistemului circulator prin promovarea constricției arteriolelor din circulația renala și sistemica, respectiv prin reabsorbția sodiului la nivelul segmentului proximal al nefronului prin stimularea cortico-suprarenalei care secretă aldosteron, care

Scanned with OKEN Scanner

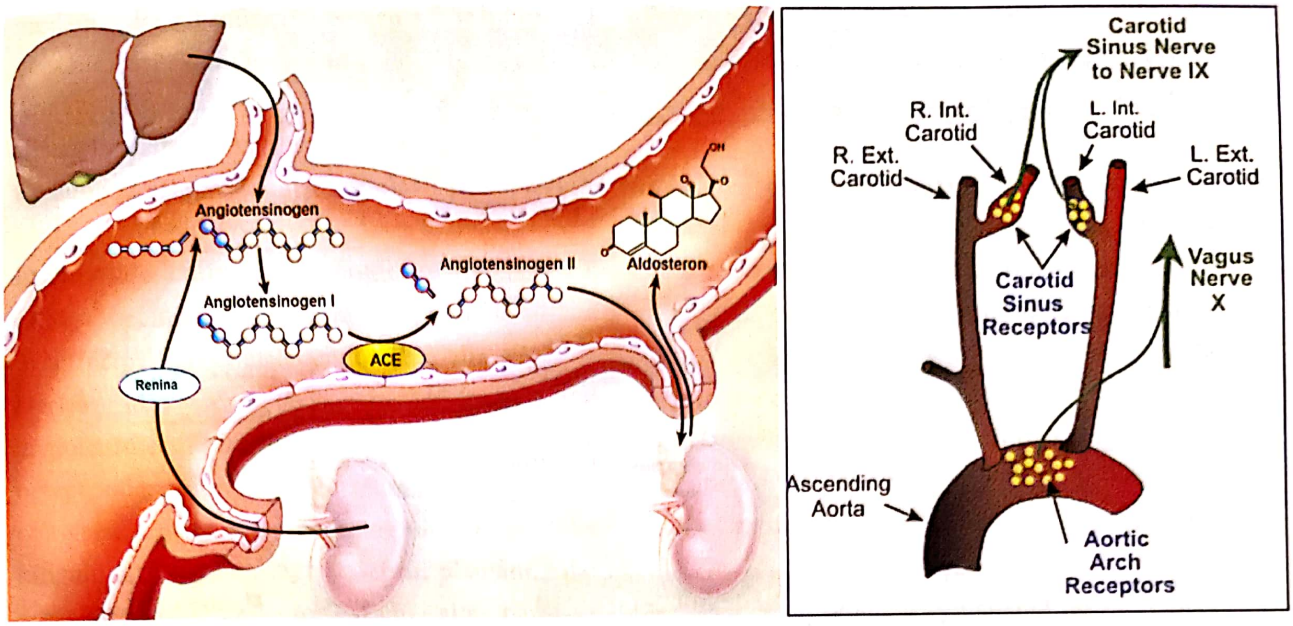


Fig. 15.10A. Sistemul renina-angiotensină-aldosteron. Angiotensinogenul, precursorul angiotensinei II, este sintetizat în ficat. În circulaţie, angiotensinogenul este clivat de renină, care este secretată de celulele juxtaglomerulare la nivelul lumenului arteriolelor renale aferente. Renina scindează 4 aminoacizi din angiotensinogen si formeaza angiotensina I. La rândul său, angiotensina I este scindată de enzima de conversie (ACE), o enzimă din membrana celulelor endote-liale, si formează angiotensina II. În zona glomerulară a corticosuprarenalei, anigotensina II stimulează producerea de aldosteron, care este de asemenea stimulată si de ionul de potasiu, ACTH, catecolamine (ex: norepinefrină) şi endoteline.

Fig. 15.10B. Localizarea si inervarea baroreceptorilor de hipertensiune din sinusul carotidian şi aortic sräspunzători de creşterile presiunii sanguine sistemice cauzând un reflex vagal bradicardic care este mediat de sistemul parasimpatic şi inhibarea simpaticului din sistemul nervos central (SNC).

promovează reabsorbţia sodiului (în schimbul potasiului) la nivelul segmentelor distale ale nefronului, în colon, în glandele salivare şi sudoripare. Variaţii ale secreţiei de renină au loc ca răspuns la variaţiile aportului de sodiu şi apă, secreţia reninei fiind inhibată când sarea şi apa sunt ingerate, respectiv activată atunci când este nevoie de aport de sare si apa. Prin urmare, poate exista o periodicitate între activarea sistemului de-a lungul unei zile, dependentă de frecvenţa aportului alimentar, ori în cursul mai multor zile, când perioadele de înfometare alternează cu consumul de alimente şi apă. Reducerea perfuziei renale, care au loc în mod normal la adoptarea unei poziţii verticale şi în timpul mişcării, stimulează de asemenea secreţia de renină

Sistemul renină-angiotensină-aldosteron menţine homeostazia sistemului circulator ca răspuns la pierderea de sare şi apă survenită în urma transpiraţiei intense sau prelungite, cauzată de temperaturi ambientale ridicate, vomă sau diaree. Concentraţiile plasmatice ale hormonilor efectori ai sistemului cresc rapid ca urmare a micşorării volumului intravascular şi reducerii perfuzării renale. Angiotensina

Scanned with OKEN Scanner

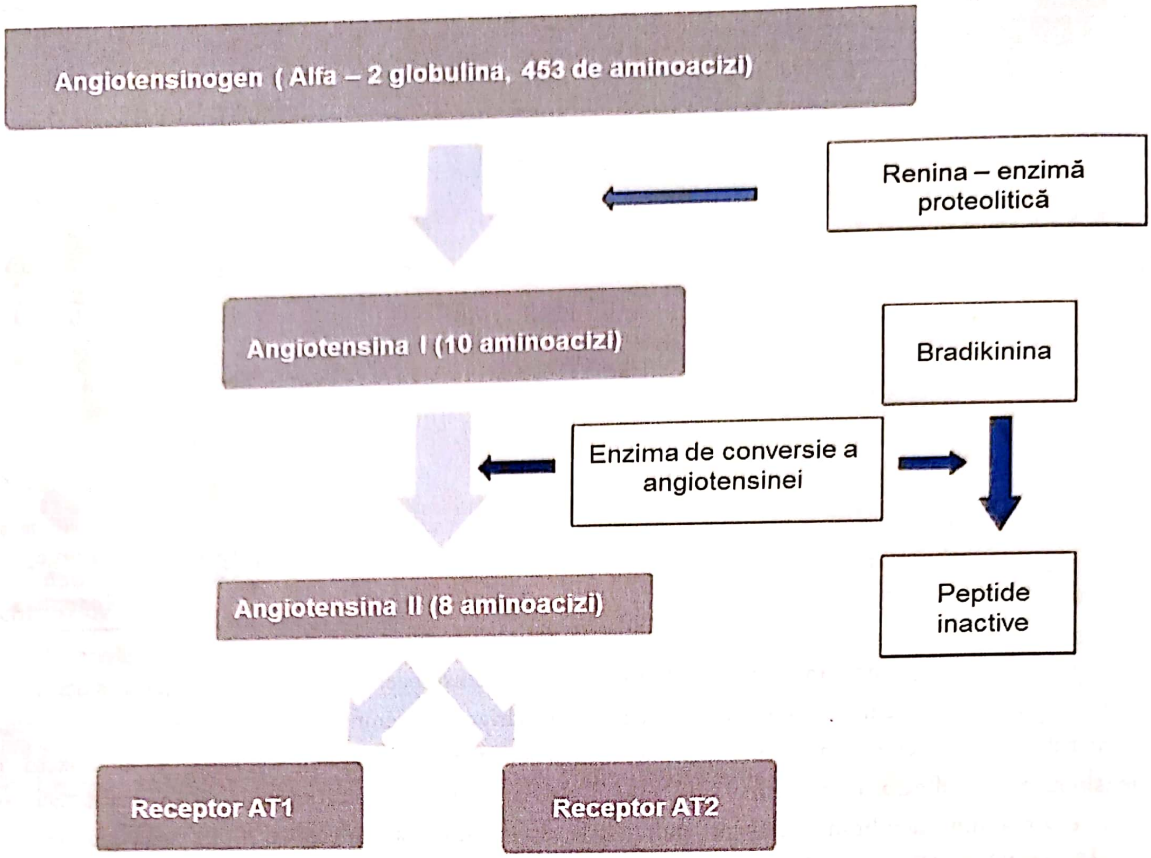


Fig. 15.11. Enzima de conversie a angiotensinei (ACE) situată pe membrana plasmatică a celulelor endoteliale din plămân, scindează 2 aminoacizi (His-Leu) din angiotensina I circulantă, pentru a forma angiotensina II, forma activă a angioten-sinogenului, care acționează vasoconstrictiv prin intermediul a 2 receptori prezenți pe vase, AT_1 si AT_2.

II este principalul stimul al producerii de aldosteron, atunci când volumul intravascular este redus. De asemenea, potasiul este un stimul fiziologic important în sinteza de aldosteron. Secreția de aldosteron este esențială pentru homeostazia potasiului, deoarece aldosteronul are capacitatea de a crește excreția potasiului în urină, fecale, transpirație și salivă. Prin urmare, aldosteronul este util în prevenirea hiperkaliemiei în timpul perioadelor caracterizate prin aport crescut de potasiu. De exemplu, secreția aldosteronului crește după consumul alimentelor cu conținut crescut de potasiu sau după efort fizic intens, care determină eliberarea de potasiu din mușchii scheletici. Importanța aldosteronului în homeostazia potasiului este evidentă la pacienții cu insuficiență aldosteronică (boala Addison), în cadrul căreia hiperkaliemia este comună și poate fi contracarată prin tratamentul cu un mineralocorticoid.

Sistemul renină-angiotensină-aldosteron

Activarea RAAS este un mecanism foarte important în reglarea presiunii sanguine. Renina este o aspartilprotează ce este sintetizată inițial ca un precursor enzimatic inactiv, proreni-na. Marea majoritate a reninei din circulație își are originea în celulele juxtaglomerulare (JG) care in-conjoară arteriolele renale aferente. Analizele de laborator ale activității reninei presupun nu doar determinarea cantității reninei din circulație ci și analiza cantității de substanțe angiotensinogenice. Angiotensinogenul circulant (o proteină cu peste 450 aminoacizi si 13% carbohidrati) se găsește în fracțiunea alpha 2 globulinică a plas-mei. Angiotensinogenul este sintetizat în ficat și este clivat de renină care eliberează o pep-tida mică de 10 aminoacizi, angiotensina I. Angiotensina I - are o proprietate vasoconstrictoare

Scanned with OKEN Scanner

moderată dar nu suficientă pentru a fi responsabilă de schimbări semnificative în funcţiile circulatorii. Angiotensina II – numită şi angiotonina, realizează constricţia arteriolară şi creşterea tensiunii arteriale în sistolă şi diastolă.

Enzima de conversie a angiotensinei (ACE), este o dipeptidilcarboxipeptidază ce este localizată în principal în celulele endoteliale din plămân. Derivă din complexul histidil-leucină al angiotensinei I fiziologic inactivă, formând o octapeptidă, angiotensina II. Mare parte a acestei con-versii are loc în timpul transportului sanguin al angiotensinei I prin plămâni, dar aceas-ta poate avea loc şi în alte părti ale corpului. La mamifere, ACE se întâlneşte sub 2 forme izoforme care iau naştere dintr-o singura gena.

- Forma somatică (ACEs) este o glicoproteină membranară integrală de tip I. Ea se găseşte în celulele endoteliale din diverse ţesuturi (inimă, rinichi).
- Forma testiculară (ACE germinală sau ACEg) este mai mică şi se găseşte numai în celulele spermatogenice aflate în faza post-meiotică şi în spermatozoizi.

Ambele enzime au un singur domeniu transmembranar şi o porţiune citoplasmatică. ACEs somatică este o proteină de 170 kDa cu două domenii extracelulare omoloage, fiecare conţinând cate un situs activ. ACEg este o proteină de 90 kDa care prezintă un singur domeniu extracelular cu un situs activ. Ambele enzime sunt formate dintr-o singură genă prin procesul de "splicing" (vezi Cap. de Acizi Nucleici). Cascada RAAS este rezumată în Fig. 15.12.

Efectele angiotensinei II, principalul hormon efector al RAAS, sunt mediate prin interacţiunea cu receptorii de angiotensină AT1 şi AT2, prezenţi pe endoteliul vascular. Dezvoltarea unor antagonişti ai acestor receptori foarte selectivi, au permis caracterizarea a cel putin două subtipuri de receptori ai angiotensin II AT1 şi AT2. Ambii receptori sunt cupla-

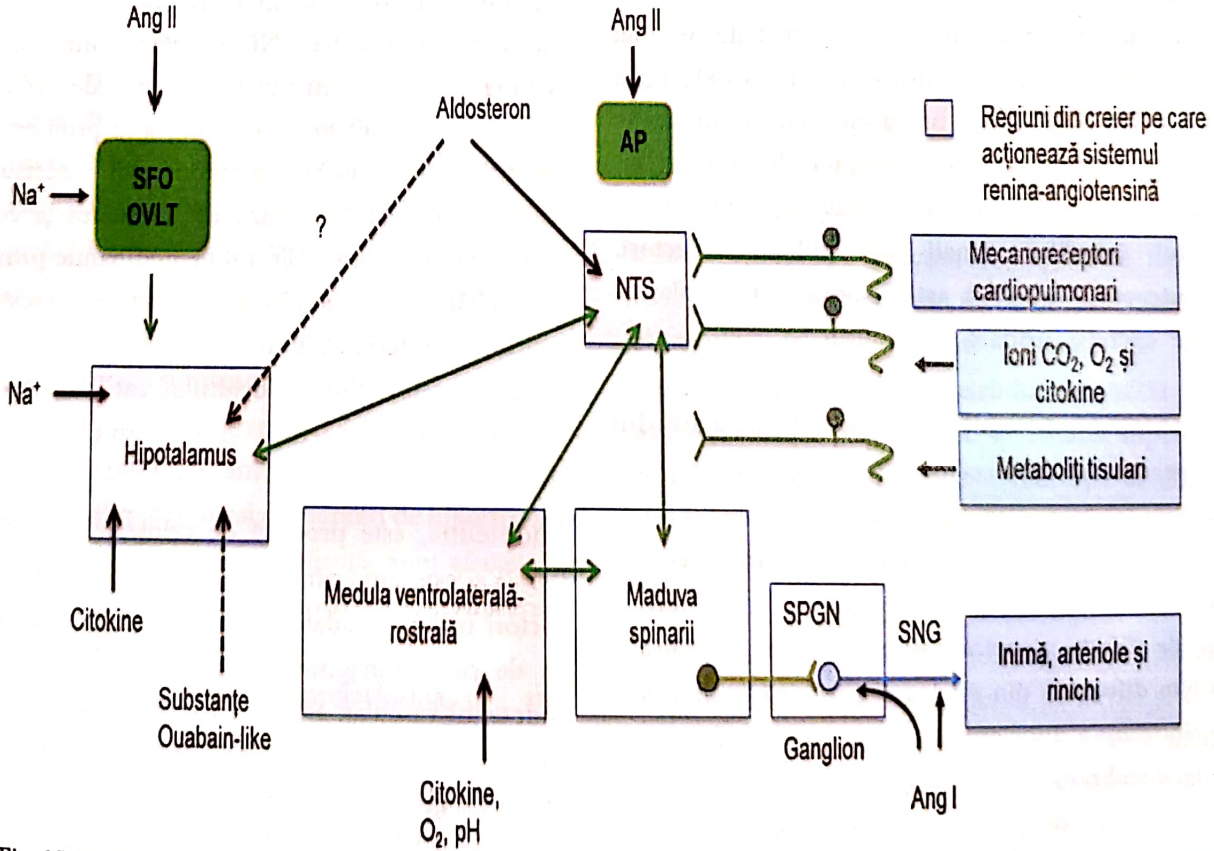


Fig. 15.12. Reţeaua sistemului nervos central care reglează tonusul simpatic bazal. Tonusul bazal al sistemului nervos simpatic (SNS) este esenţial pentru reglarea pe termen lung a presiunii arteriale. În figură săgeţiile negre indică modulatorii externi circulanţi iar cele verzi modulatorii tisulari şi chimici (modificat după Guyenet, Nature Rev Neurosci 7:336, 2006). NTS (nucleus of he solitary tract); OLVT (organum vasculosum lamina terminalis); SFO (subfornical organ); SGN (ganglioni neuronali simpatici); SPGN (preganglion neuronal simpatic).

Scanned with OKEN Scanner

Tabel 15.1. Acțiunea angiotensinei II la nivelul receptorilor

Acțiunea angiotensinei II pe receptorii AT1 și AT2	
AT1	AT2
Vasoconstricție	Vasodilatație
Antidiureza / antinatriureza	Diureza / natriureza
Creșterea și proliferarea celulelor	Antiproliferare

ti cu proteina G care mediază acțiunea intracelulară. Expresia acestor receptori nu e statică. Anumiți hormoni, agenți patogeni și condiții patologice pot crește sau suprima expresia acestora (Tabelul 15.1). Aldosteronul este un hormon steroid secretat în principal de cortexul suprarenalei. Activitatea mineralocorticoidă a aldosteronului este de 3000 de ori mai mare decât a cortizolului, dar concentrația plasmatică a cortizolului este de 2000 de ori mai mare decat cea a aldosteronului astfel încât activitațile acestor doi hormoni sunt comparabile. Aldosteronul crește r e absorbția de sodiu (Na^+) și excreția de K^+ de către celulele epiteliale la nivelul tubulilor renali din tubulii colectori. Aldosteronul conservă astfel sodiul extracelular și crește excreția urinară de potasiu.

Mecanisme de acțiune ale aldosteronului

Aldosteronul are o structura lipidica și difuzează prin membrana plasmatică din celulele epiteliale tubulare. În citoplasmă, se combină cu o proteina receptor și difuzează în nucleu pentru a activa sinteza de diferite tipuri de ARN mesager (ARNm). ARNm difuzează din nucleu și participă la sinteza pe ribozomi a unor enzime și transportori de proteine membranare precum ATPaza dependentă de sodiu/potasiu, care sunt necesare pentru transportul Na/K între compartimentele intra- și extracelulare.

Factori locali derivați din endoteliul vascular

Oxidul de azot (NO) cunoscut și sub denumirea de factorul de relaxare derivat din endoteliu (EDRF), este un gaz cu o durată de viață scurtă. Este eliberat de celulele endoteliale ca răspuns la stresul indus de fluxul sanguin prin activarea unor de receptori membranari. NO este sintetizat din arginină de către NO sintetază (nitric oxide synthase, NOS). În plus, față de efectul vasodilatator, NO are un efect anti-proliferativ, antitrombotic, efect inhibitor al adeziunii leucocitelor și influențează de asemenea și contracțiile miocardului. Efectul hemodinamic primar al inhibării farmacologice a NO include o creștere a presiunii arteriale pulmonare și sistemice și o scădere în același timp a debitului cardiac. Efectul vasoconstrictor al ANG II este intensificat în absența NO.

Endotelina, este produsă de celulele endoteliale (ET-1) și este unul dintre cei mai potenti vasoconstrictori izolați vreodată. A fost denumită endotelina de către Yanagisawa datorită originii sale în endoteliul vascular. ET1, ET2 si ET3 aparțin unei familii de polipeptide similare dar fiecare este codificată de gene diferite. Au fost clonați 2 tipuri de receptori ai ET, ETa și ETb. Activarea receptorului ETb conduce la o scădere a tensiunii arteriale și la natriureză prin efectele exercitate asupra glandei suprarenale și inimii (ionotropism negativ). Ast-

Scanned with OKEN Scanner

fel, scade activitatea simpatică si se produce vasodilatație sistemică. Activarea receptorului ETa conduce la creșterea presiunii arteriale, creșterea retenției de sodiu prin creșterea activității simpatice, ionotropism pozitiv al inimii, eliberarea crescută de catecolamine și vasoconstricție sistemică. Stimulatorii ET-1 includ următorii factori: angiotensina II, catecolaminele, factorii de creștere, hipoxia, insulina, LDL oxidat, HDL, stresul și trombina. Inhibitorii secreției de ET1 includ NO, ANP, PGE-2 și prostaciclinele. Antagoniști de endotelina1 sunt folosiți la ora actuală în tratarea hipertensiunii pulmonare.

Alți hormoni implicați în controlul tensiunii arteriale

Peptidele natriuretice (NP), sunt un grup de hormoni ce includ ANP, BNP, și peptide natriuretice de tip C (CNP). ANP a fost prima peptidă natriuretică descoperită. Este sintetizată în principal în zona atrială a miocardului. BNP este sintetizat de regula în ventricule. Forma CNP este secretată de endoteliu vascular.

Peptidele natriuretice își exercită funcțiile legându-se de receptori cu activitate de guanidil-ciclaza: tip A (NPR-A) și tip B (NPR-B). Efectele biologice ale ANP și BNP sunt mediate prin NPR-A și cele ale CNP prin NPR-B. Peptidele natriuretice inhibă rețeaua RAAS și reglează apa și echilibrul electrolitic. Peptidele natriuretice inhibă de asemenea sistemul nervos simpatic producând bradicardie și scă-derea tensiunii arteriale. Peptidele natriuretice joacă un rol important în remodelarea țesutului cardiac și se pot folosi ca markeri de hipertrofie ventriculară stângă sau dreaptă. Sunt afectate, de asemenea, fibroblastele cardiace prin reducerea sintezei de colagen.

Nivele ridicate de NP, în special forma NPB, au fost asociate cu insuficiența cardiacă acută. BNP este un marker biochimic de laborator util în aprecierea insuficienței cardiace dar și pentru a putea da un prognostic informativ despre viitoarele efecte la pacienții cu insuficiență cardiacă congestivă. ANP induce vasodilatație independentă de endoteliu atât în arterele mari cat și în cele mici.

Sistemul vasopresina

Vasopresina este cunoscută sub denumirea de hormonul antidiuretic (ADH) și este sintetizată în hipotalamus. Hormonul uman este denumit ar-ginin-vasopresină (AVP) deoarece conține arginina. Există 3 tipuri de receptori ai vasopresinei: V1A, V1B și V2. Toți sunt cuplați cu proteina G din calea de semnalizare. ADH crește permeabilitatea canalelor colectoare ale rinichilor în scopul concentrării urinii care este efectul fiziologic primar de retenție al apei și de scădere a presiunii osmotice din fluidele corpului.

Secreția de vasopresină este stimulată de creșterea presiunii osmotice a plasmei, scăderea volumului lichidului extracelular, durere, emoție, vomitat și inhibată de scăderea presiunii osmotice, creșterea volumului lichidului extracelular și ingerarea de alcool. Antagoniști ai receptorului pentru vasopresină scad contracția vasculară a mușchilor și au efecte diuretice. Aceste medicamente sunt în evaluare clinică.

Pepidele vasodilatatoare: Adrenomedulina, Substanța P și peptide inrudite cu calcitonina. Adrenomedulina (ADM) este o peptidă de 52 aminoacizi al cărei nume vine de la abundența sa în medulosuprarenală precum și în țesutul feocromocitomic care se formează din medulosuprarenală. Nivelul plasmatic de ADM este crescut la pacienții hipertensivi. Creșterea nivelelului de ADM la acești pacienți este proporțional cu severitatea hipertensiunii și afectarea organului țintă, o indicație că ADM este eliberată pentru a compensa creșterea tensiunii arteriale.

Substanța P este o peptidă formată din 11 aminoacizi care se găsește în intestin, nervii periferici și în multe regiuni ale SNC. Este mediatoare a primei sinapse în calea transmiterii durerii în coarnele dorsale ale coloanei vertebrale. Substanța P se găsește de asemenea în concentrații mari în sistemul ni-

Scanned with OKEN Scanner

grostriatal și în hipotalamus. Se presupune că are rol în reglarea neuro-endocrină a organismului. Este un vasodilator potent dar are efecte moderate asupra ritmului cardiac și contracțiilor inimii.

Calcitonin-related peptide, CGRP este o neuropeptidă formată din 37 de aminoacizi cu o distribuție vastă în sistemul nervos și cardiovascular. Este un vasodilatator foarte potent și are efecte inotrope și cronotrope pozitive.

Sistemul kalikreina-chinina (KKC) cuprinde kalikreina (enzima formatoare de chinina), kininogene (substrate), chinine (peptide vasoactive), enzime care degradează chinina și receptori ai chininei. KKC joacă un rol important în controlul hemodinamicii locale și sistemice prin contracția mușchilor viscerali și relaxarea acestora via NO, contribuind astfel la scăderea tensiunii arteriale. Inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei exercită efecte cardiovasculare benefice prin potențarea efectului chininelor endogene.

Fosducina (PDC) este un modulator citosolic al proteinei G implicat în semnalizarea intracelulară și se găsește în retina, SNC, epifiza și în ganglionii simpatici. Studii recente au dezvăluit rolul genei PDC în modularea răspunsului adrenergic și răspunsul tensiunii arteriale la stres. Prezintă un rol important de mediator în hipertensiunea dependentă de stres.

Țesutul adipos și adipokine

Țesutul adipos nu este doar un rezervor pasiv de depozitare al energiei. Țesutul adipos este un organ endocrin care secretă peptide bioactive, adipokine. Adipokinele includ hormoni, citokine, și alte proteine precum angiotensinogenul care acționează atât la nivel local (autocrin/paracrin) cât și sistemic.

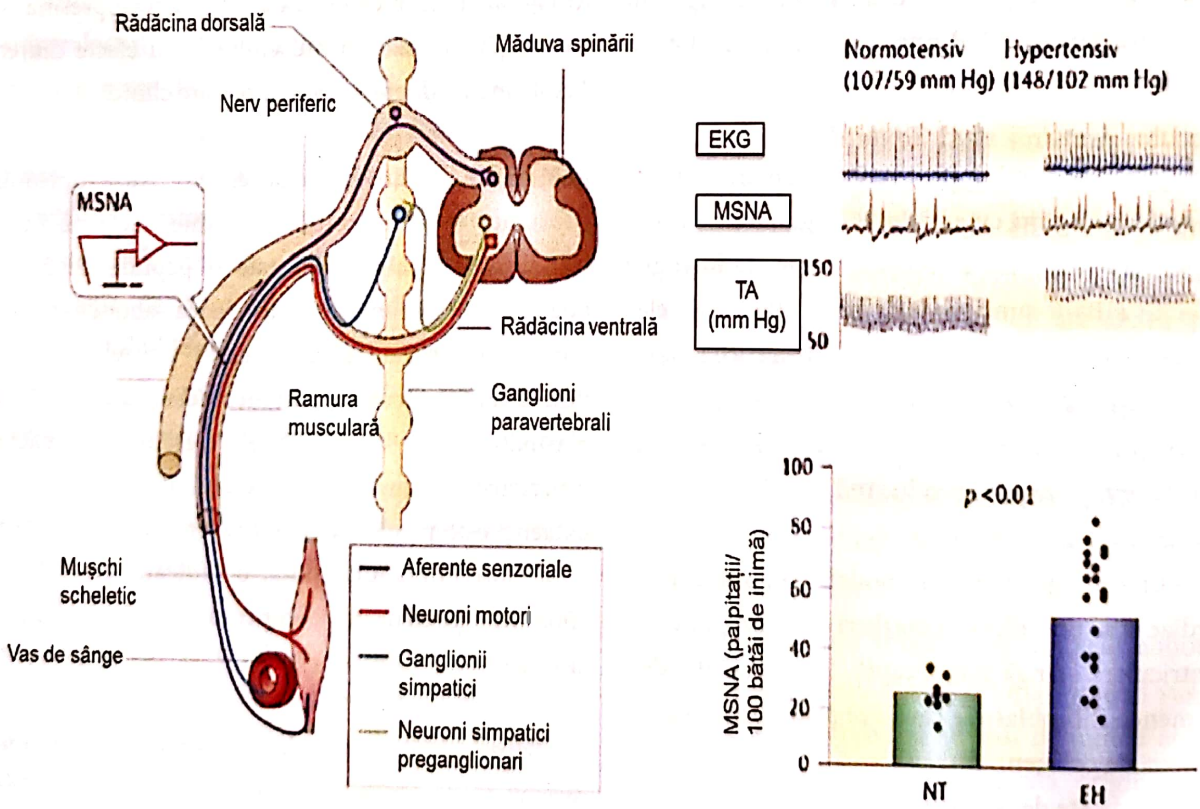


Fig. 15.13. (a) Activitatea simpaticului și hipertensiunea. Activitatea sistemului nervos simpatic poate fi măsurată direct cu ajutorul unui electrod metalic care se introduce în nervul somatic cu condiția ca activitatea nervilor senzoriali și motorii să fie neglijabila. (b,c) Muscle SNA, MSNA: activitatea sistemul nervos simpatic muscular. Se efectuează înregistrări multifibrilare la persoane normotensive (NT) și hipertensive. Intensitatea și frecvența MSNA este crescută în hiperten-siune esențială (EH) și alte forme de hipertensiune (obezitate, apnee obstructivă) și alte patologii (insuficiență cardio-vasculară, hemoragie și dehidratare)(modificat după Guyenet, Nature Rev Neurosci 7:336, 2006).

Scanned with OKEN Scanner

Adipokinele influențează tonusul vascular în condiții normale dar această reglare a tonusului vascular este compromisă la pacienții obezi. Leptina și factorul de necroză tumorală alpha (TNF-α) au efecte vasorelaxante și efecte fiziologice vasoconstrictoare. Adiponectina este eliberată atât de adipocitele din țesutul adipos și are proprietăți cardioprotective. Este o adipokină vasorelaxantă care crește nivelul de NO și inhibă producția TNF-α. Scăderea nivelului de adiponectine se observă la pacienții obezi. Acest fenomen duce la disfuncție endotelială și este un semnal al aterosclerozei apărute prematur. Leptina, este un hormon format dintr-o polipeptidă de 167 de aminoacizi cu greutatea moleculară de 16 kDa. Joacă un rol important în obezitate și instalarea bolilor cardiovasculare. Un nivel crescut de leptina este de regulă asociat cu scăderea elasticității arteriale. Nivelul seric de leptina a fost corelat cu tensiunea arterială sistolică și diastolică atât la indivizii obezi cât și la cei normali.

Concluzii

O rețea de factori locali derivați din endoteliu, sistemul nervos simpatic, schimbări în hemodinamica renală și semnale endocrine este responsabilă de controlul tensiunii arteriale în populația sănătoasă (Fig. 15.13). Înțelegând acest sistem de reglare, putem întelege mai bine fiziopatologia creșterii presiunii arteriale observate în hipertensiunea primară și secundară.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

III. Homeostazia lichidelor organismului

Un concept fundamental utilizat în fiziologie este cel de homeostazie a mediului intern, definită ca acțiunea de menținere constantă a parametrilor mediului intern. Toate organele și țesuturile organismului interacționează în scopul menținerii în limite constante a parametrilor mediului intern. Prin plamâni, oxigenul ajunge in organism si ajunge în mediul extracelular de unde este preluat de celule si folosit pentru producerea de energie iar tractul gastro-intestinal furnizează substrate energetice care vor elibera energie sub formă de ATP în mitocondrii folosind oxigenul furnizat de plămâni. Rinichiul are un rol important în menținerea unei concentrații ionice în limite fiziologice. Homeostazia lichidelor organismului este esențială. De aceea concentrația ionilor de sodiu (Na+), osmolaritatea în plasmă și lichidul cefalorahidian sunt monitorizate în creier în mod continuu. Reglarea nivelului de Na+ și consumul de apă sunt foarte importante pentru menținerea unui nivel fiziologic de Na+/osmolaritate în lichidele biologice. S-au propus două sisteme independente pentru monitorizarea si relarea concentratie de [Na+] și al osmolalității care sunt localizate în organele circumventriculare (CVOs) și se bazează canale de sodiu (NaX) și canale de calciu de tip (TRP).

În ciuda variațiilor dintre aportul de apă prin ingestie (lichide, alimente, apa rezultata din reactiile metabolice) și cea excretată, organismul menține în limite constante nivelul apei din organism (Tab. 15.2). Variațiile zilnice ale volumului total al apei din organism sunt sub 1% din greutatea corporală, astfel incât fluidele organismului și osmolaritatea plasmatica sunt menținute constant.

Cantitate apă ingerată ≈ Cantitate apă excretată

Organismele mamifere au dezvoltate mecanisme specifice pentru menținerea osmolarității organismului la 300mOsm/kg prin consumul și excreția de apă și săruri. Osmoreglarea homeostatică este importantă deoarece modificările volumului celular cauzate de hipertonicitate sau hipotonie severă pot duce la leziuni ireversibile ale organelor și pot provoca traume neurologice letale. Sodiu (Na) este un electrolit important în fluidele extracelulare și principalul factor determinant al osmolalității. Atunci când animalele sunt deshidratate, [Na+] în fluidele corpului crește, împreună cu osmolalitatea. Al doilea mecanism acționează la nivelului rinichilor unde se controlează reabsorbția sodiului și implicit a apei și care este controlat central de osmosenzori alcatuiți din canale de Ca (Fig. 15.14).

Controlul homeostaziei apei în organism este realizat în principal prin două mecanisme, la nivelul sistemului nervos prin control hipotalamic și la nivel sistemic prin intermediul volumul sângelui arterial.

Tab. 15.2. Cantitatea de apă ingerată din lichide, alimentate sau apă provenita din reacțiile metabolice este regasită în apa excretată sub formă de transpirație, expirație, urină și fecale. Volumele aproximative de apa ingerata si excretata pentru o persoana de aproximativ 70 kg.

Cantitatea de apă ingerată			Cantitatea de apă excretată			
Lichide	*Alimente*	*Metabolism*	*Transpirație*	*Expirație*	*Urină*	*Fecale*
1500 ml	800 ml	400 ml	600 ml	400 ml	1500 ml	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

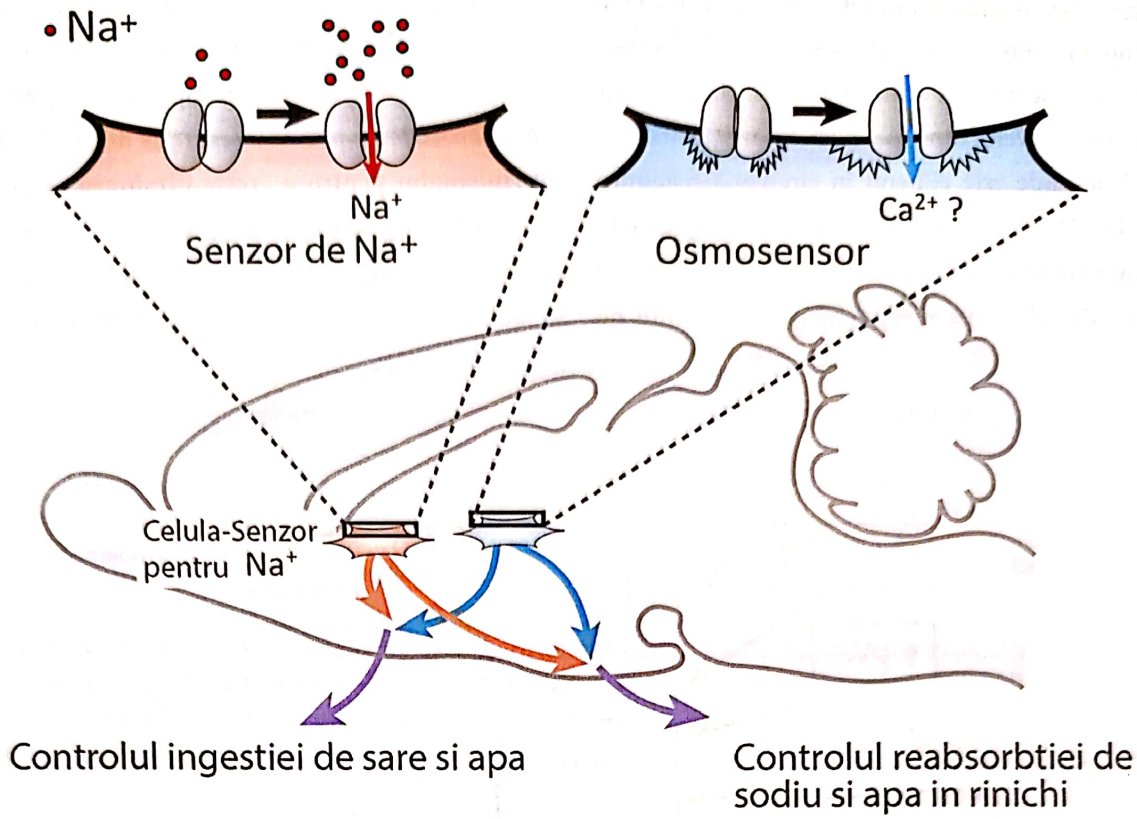


Fig. 15.14. Se cunosc 2 mecanisme prin care se menține homeostazia electrolitică: controlul ingestiei de Na și sare controlat de un canal de sodiu și controlul reabsorbției sodiului și apei in rinichi controlat de osmosenzori, care sunt in esență canale de Ca.

Controlul nervos central se realizează prin intermediul unor nuclee dintr-o formațiune circumventriculară la nivelul ventriculului 3, numită „*organum vasculosum of the lamina terminalis*" (OVLT) și o formațiune anatomică subfornicală (subfornical organ, SFO), care au legături anatomice cu hipotalamusul (Fig. 15.15). Acest complex anatomic este responsabil de reglarea echilibrului electrolitic prin stimularea senzației de sete și controlul excretiei de sodiu controlând prin aceste mecanisme volumul sangelui și secreția de vasopresină. Un mecanism bazal de funcționare se bazează pe eliberarea reninei de către rinichi în urma scăderii volumului sângelui fară modificarea presiunii osmotice cum ar fi în caz de arsuri, accidente rutiere, diaree. Renina eliberată crește la randul ei nivelul angiotensinei II din ser. Angiotensina II stimulează nucleele din complexul circumventricular OVLT/SFO. Nucleii OVLT/SFO trimit terminții nervoase către nucleii hipotalamici "nucleus medianus" sau "medial preoptic nucleus" care în ultima instanță controlează senzația de sete, comandând ingestia de apa și refacerea volumului sângelui arterial închizând astfel bucla regulatoare de tip pozitiv ("positive feedback loop") (Fig. 15.16).

Al doilea mecanism de reglare este realizat de osmoreceptorii prezenți în complexul circumventricular OVLT/SFO (Fig. 15.16). Nucleele „osmoreceptoa-

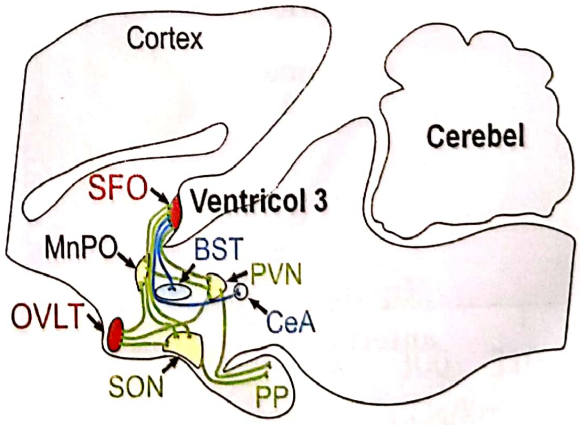


Fig. 15.15. Relația anatomică dintre hipotalamusului și formațiunea circumventriculară care sesizează volumul sângelui arterial și osmolaritatea plasmei.

re" inervează nucleii supraoptici și paraventriculari din hipotalamus care secretă hormonul **argininvasopresina** (hormonul antidiuretic-ADH) care este depozitat la nivelul hipofizei posterioare („pars nervosa") de unde este eliberat în circulația sistemică (Fig. 15.17). Schimbări de numai cateva procente în osmolalitatea plasmei sunt suficiente să inducă secretia de ADH. La nivel celular mecanismul de

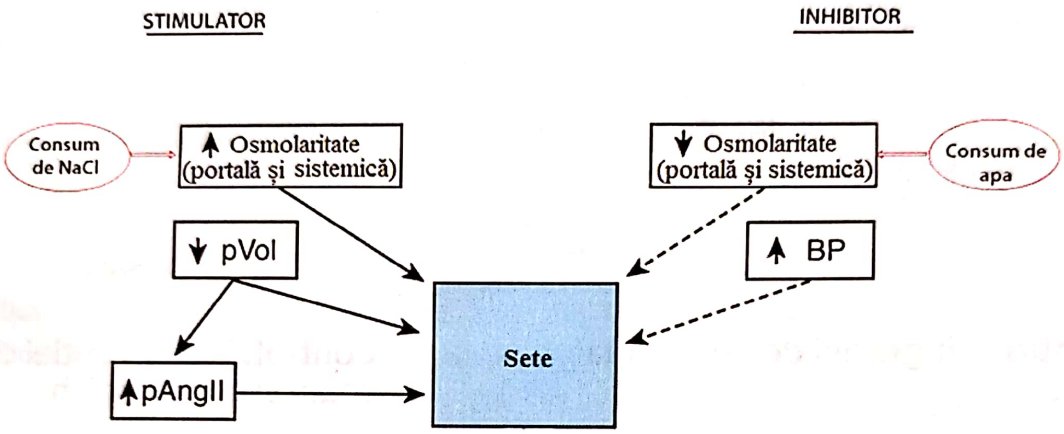


Fig. 15.16. Senzația de sete comandă ingestia de apă și refacerea volumului sangelui arterial și este reglată printr-un "feed back" pozitiv.

funcționare se bazează pe *sesizarea presiunii osmotice din sânge indirect, prin modificarea volumului unei celule neuronale* (Fig. 15.18) care într-un mediu hiperosmotic își micșorează volumul prin difuzia apei citoplasmatice către exteriorul celului. ADH acționează la nivelul tubulilor renali prin reglarea volumul urinar pentru a compensa variațiile pierderilor sau lipsa ingestiei de apă. În hipervolemie, nivelul scăzut al ADH va promova excreția de apă la nivelul rinichiului pentru a crește presiunea osmotica (Fig. 15.19). În hipovolemie, scăderea cu peste 10% a volumului sanguin va determina scăderea fluxului sanguin renal care stimulează eliberarea de renina de catre rinichi ce are drept consecință o creștere a producției de angiotensina II din ficat. Angiotensina II va stimula eliberarea de ADH din neurohipofiza care va determina o retenție a apei la nivelulul rinichiului cu refacerea volemiei si presiunii arteriale.

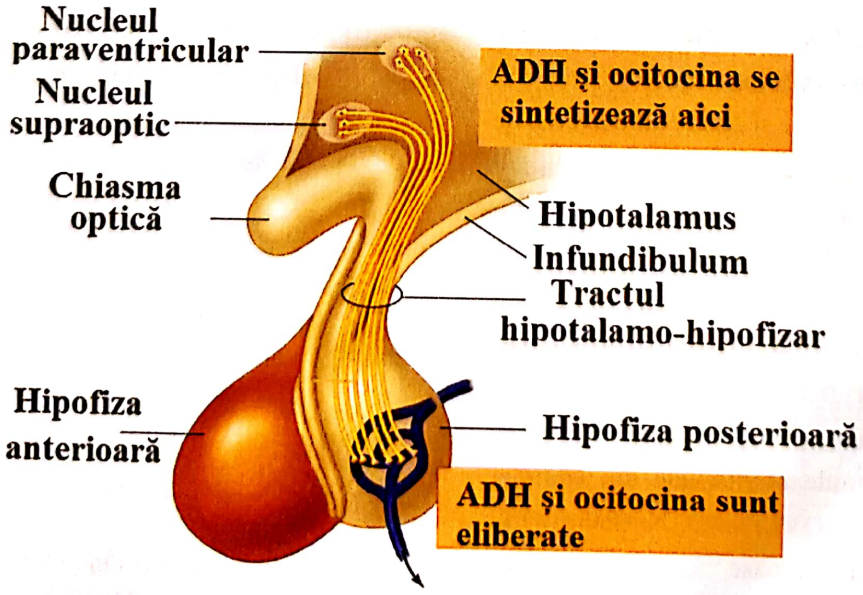


Fig. 15.17. Relația anatomică dintre hipotalamus și hipofiză

Scanned with OKEN Scanner

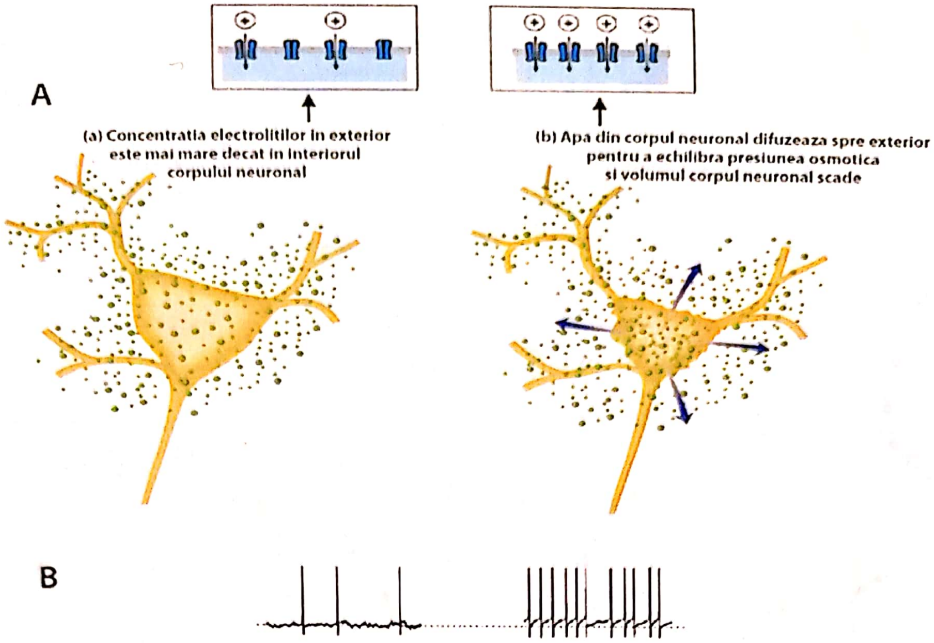


Fig. 15.18.Modul de funcționare al unui senzor neuronal. (A) Într-un mediu hipoosmotic, volumul celulei neuronale se mărește în timp ce într-un mediu hiperosmotic volumul celulei neuronale se micșorează, (B) Modificări în activitatea electrică a unei celule neuronale care funcționează ca senzor de concentratie.

Senzorul de Na în sistemul nervos central

Fiind un electrolit major al fluidului extracelular, Na joacă un rol fundamental în menținerea volumului și compoziția fiecărui compartiment lichid în organism. Prin urmare, cantitatea de sodiu în fluidele corpului trebuie să fie reglată corespunzător pentru a asigura performanța optimă a numeroase procese fiziologice: excitabilitate neuronală, transportul de substanțe, filtrarea glomerulară și renală, excreția toxinelor, și controlul volumului extracelular și al tensiunii arteriale.

Dereglari în homeostazia Na poate duce la patologii severe, cum ar fi reactivitate vasculară exagerată, hipertensiune arterială, sau colapsul circulatiei sanguine. Canalele de Na, [Na(x)] reprezintă canale atipice a căror structură este relativ divergentă (aproape 50% identică) față de celelalte canale de Na voltaj-dependente (Fig. 15.14). Canalele Na (x) sunt exprimate în mod specific în organele circumventriculare (CVO) în creier; SFO, OVLT, eminența mediană (ME), și glanda pituitară posterioră la șoareci (Fig. 15.20).

Putem concluziona că reglarea senzatiei de sete în organism stă la baza ajustării volumului arterial și a osmolarității plasmei.

Astfel, distingem sete cauzată de hipovolemie și sete cauzată de creșterea presiunii osmotice.

Senzația de sete de tip hipovolemic este determinată de scaderea volumul sângelui arterial datorită unor arsuri sau di-

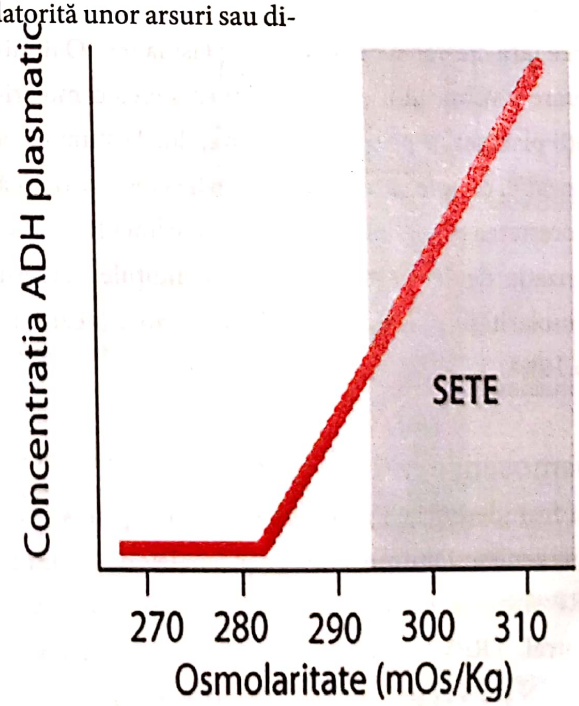


Fig. 15.19. O osmolaritate mai mare de 283 mOs/Kg determină secretia de ADH care este eliberat în plasmă.

Scanned with OKEN Scanner

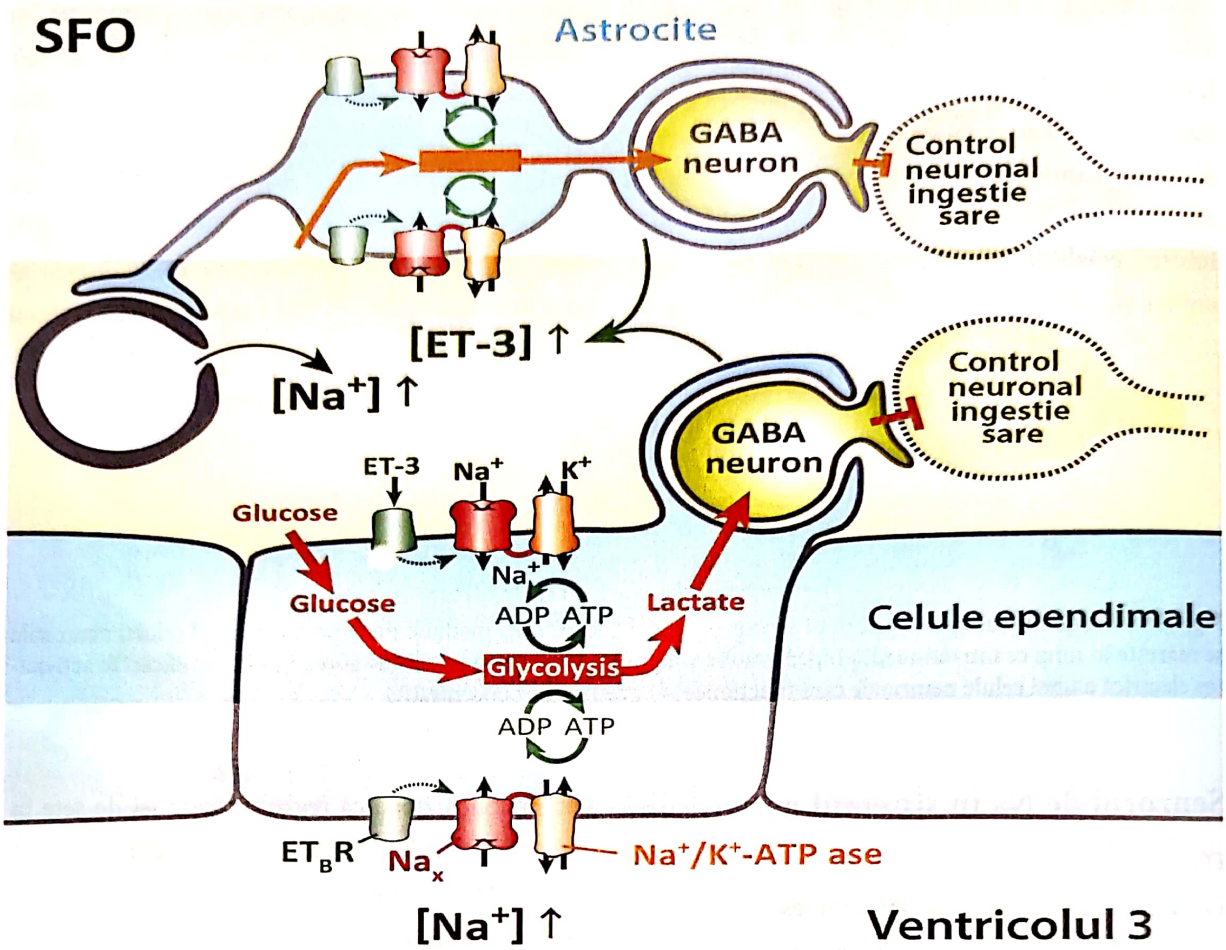


Fig. 15.20. Imagini de imunhistochimie și de microscopie electronica au arătat că Na(x) este localizat în extensii perineuronale ale celulelor ependimale și astrocitelor din SFO și OVLT (modificat după Noda & Sakuta, Trends in Neurosciences , 2013, Vol. 36, No. 11).

aree fara creșterea osmolarității plasmatice. O diminuare a volumului de sânge sau creșterea osmolarității plasmatice prin aport de sare, duc la stimularea senzatiei de sete, ce duce la o ingestie crescută de apă și creșterea nivelului seric al angiotensinei II.

Senzația de sete este scăzută în condițiile scăderii osmolarității plasmatice și hipervolemiei (vezi Fig. 15.16).

Osmosenzorii în creier

Au fost identificate mai multe molecule prin screening genetic. Dintre acestea doar canalele de Ca de tip TRP prezintă rol de osmosenzori în sistemul nervos central. TRPV1, TRPV2 și TRPV4 sunt exprimate în SON și PVN și răspund la hipertonie (Fig. 15.21). Reglarea volemiei si presiunii osmotice de către aldosteron, un hormon (Fig. 15.22) care este eliberat de celulele din zona glomerulosă a suprarenalei (Fig. 15.23). Aldosteronul este sub control central alcatuit din osmosenzori și reglează balanța între sodiu excretat și potasiu resorbit la nivelul rinichiului. Aldosteronul reglează în principal presiunea arterială prin efectul asupra excreției de sodiu și indirect al apei, la nivelul tubulilor proximali sub acțiunea forțelor hidrostatice pericapilare și a presiunii colidale favorizând simultan eliminarea de potasiu. De exemplu, dacă *presiune arterială scade, suprarenala va elibera aldosteron care va spori retenția de sodiu și apă, refăcând astfel presiunea coloidală osmotică.* Creșterea volumului sângelui va stimula, dimpotriva diureza și eliminarea de sodiu („natriureza"). Ca urmare, presiunea osmotica a sângelui va fi restabilită. O altă acțiune fiziologică a aldosteronului este eliberarea factorului atrial peptidic („atrial natriu-

Scanned with OKEN Scanner

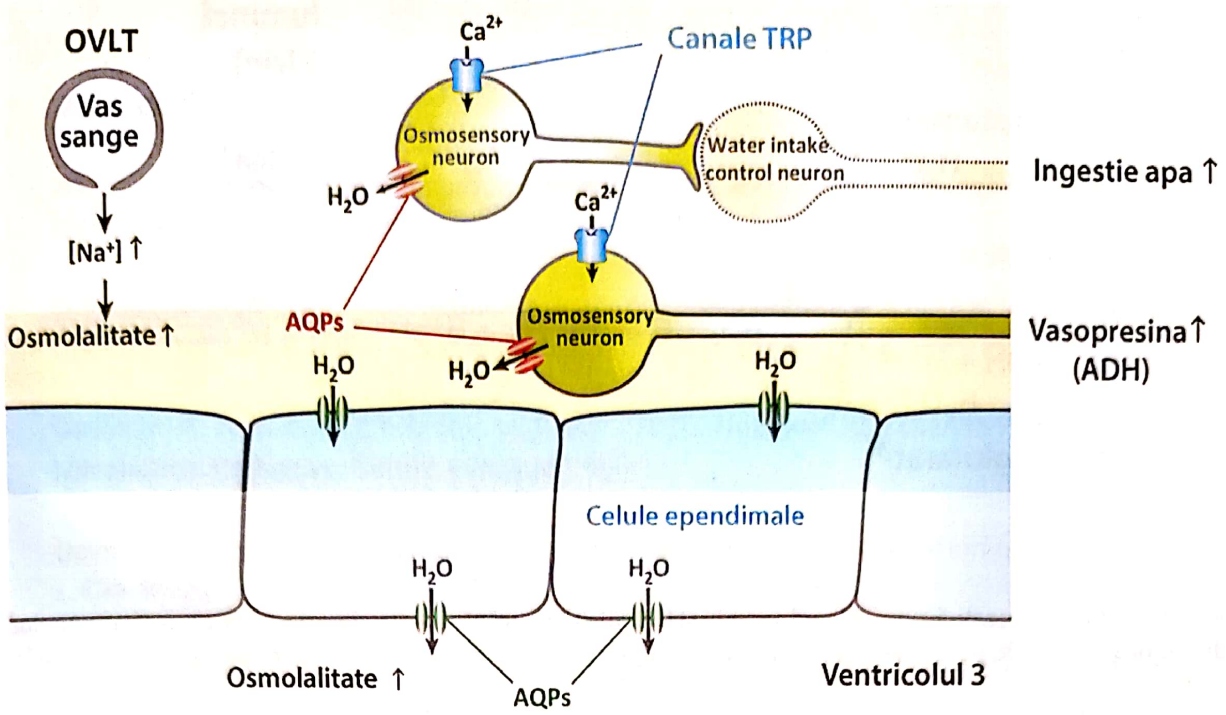


Fig. 15.21. Canalele de Ca de tip TRP sunt osmosenzori din sistemul nervos central responsabili de reglarea retenției de sodiu și apa la nivelul rinichiului (modificat după Noda & Sakuta, Trends in Neurosciences , 2013, Vol. 36, No. 11).

retic peptide (ANP)" precum și a urodilatinei.

Rolul rinichiului în menținerea echilibrului hiroelectrolitic

Amoniacul (NH_3) rezultă în organism din catabolismul aminoacizilor și prin absorbție intestinală. Amoniacul este capabil să se combine cu protonii formând ionul amoniu (NH_4^+). Ionul amoniu este componenta majora în menținerea pH-ului urinar. În sânge, ionul de amoniu este menținut in concentrații mici deoarece este un compus toxic pentru sistemul nervos. Celulele renale formează ion amoniu și îl elimina prin urina direct proporțional cu concentrația ionilor de hidrogen din sânge, un proces

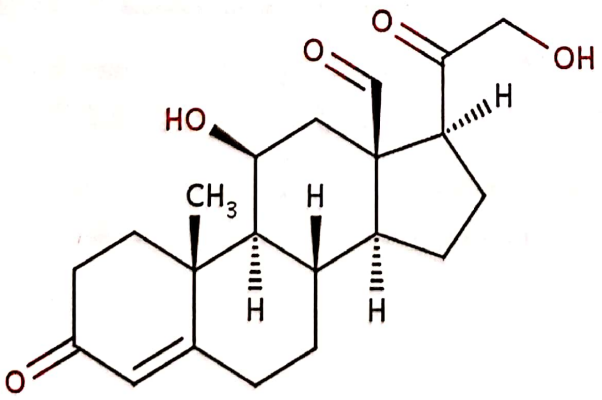


Fig. 15.22. Structura chimică a aldosteronului. Reglarea volemiei și presiunii osmotice de către aldosteron, un hormon care este eliberat de celulele din zona glomerulosă a suprarenalei

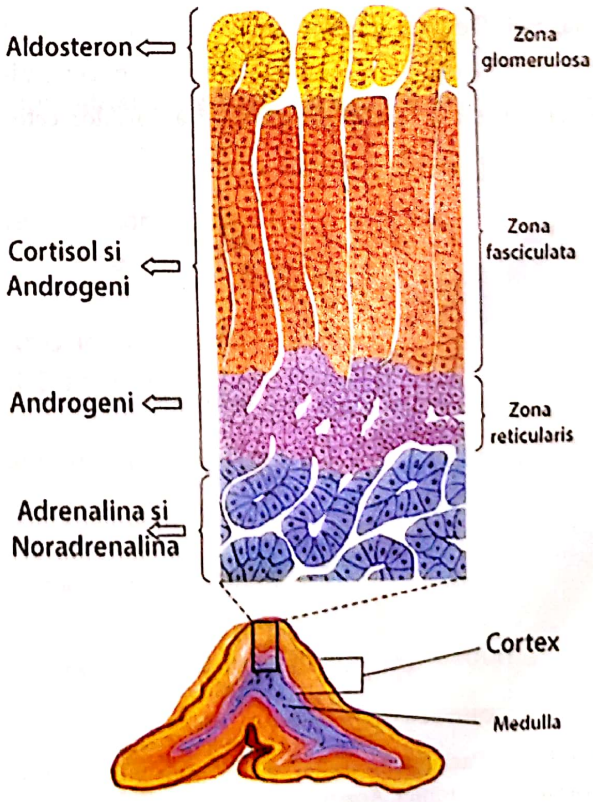


Fig. 15.23. Structura anatomică a glandei suprarenale

Scanned with OKEN Scanner

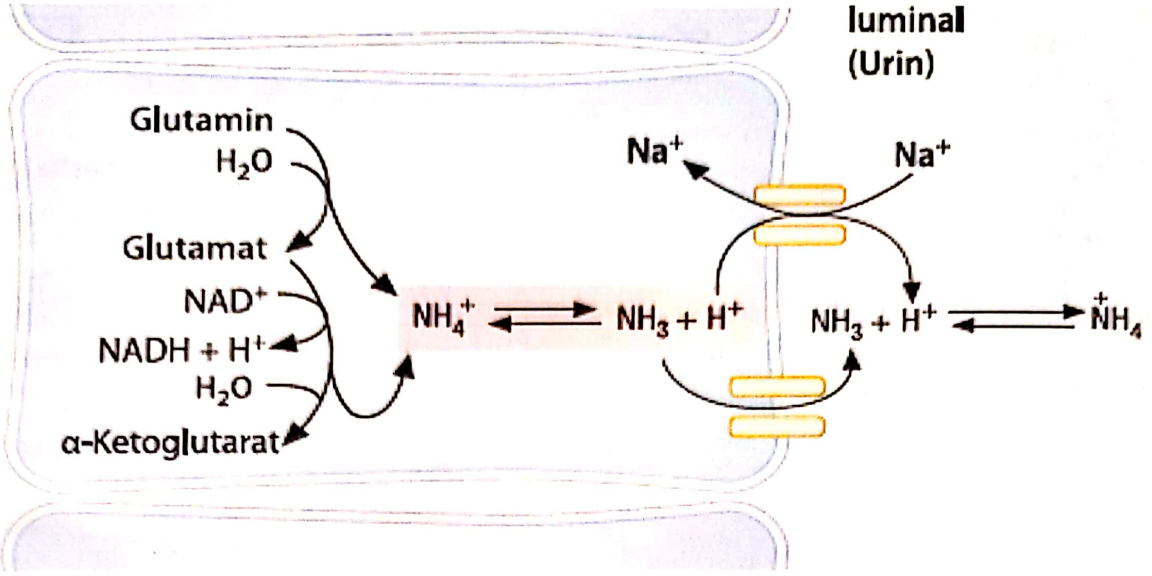


Fig. 15.24. Celulele renale formează ionul amoniu și îl elimina prin urină direct proporțional cu concentrația ionilor de hidrogen din sânge, un proces cu participarea glutaminei care este principala formă de transport a amoniacului în sânge.

cu participarea glutaminei care este principala formă de transport a amoniacului în sange (Fig. 15.24). În patologie, exemplul cel mai elocvent de redistribuire de electroliți este cel determinat de glucoza serică. În hiperglicemie excesul de glucoză determină creșterea osmolarității plasmei și deplasarea apei intracelulare în scopul diminuarii osmolarității plasmei. De exemplu, un pacient cu diabet zaharat prezintă o diureză osmotică datorită concentrației crescute a glucozei sanguine și a corpilor cetonici. Aceștia trec din sânge în filtratul glomerular și apoi în urină. Consecința diurezei osmotice este o *hiperosmolaritate a filtratului glomerular* ce atra-ge după sine o eliminare crescută de apă prin urina (poliurie).

Prin urmare, apa trece din spațiul intracelular în plasmă ducând la deshidratarea celulelor (în special la nivelul creierului), acestea fiind incapabile să își exercite funcția și pacientul poate intra în comă (Fig. 15.25).

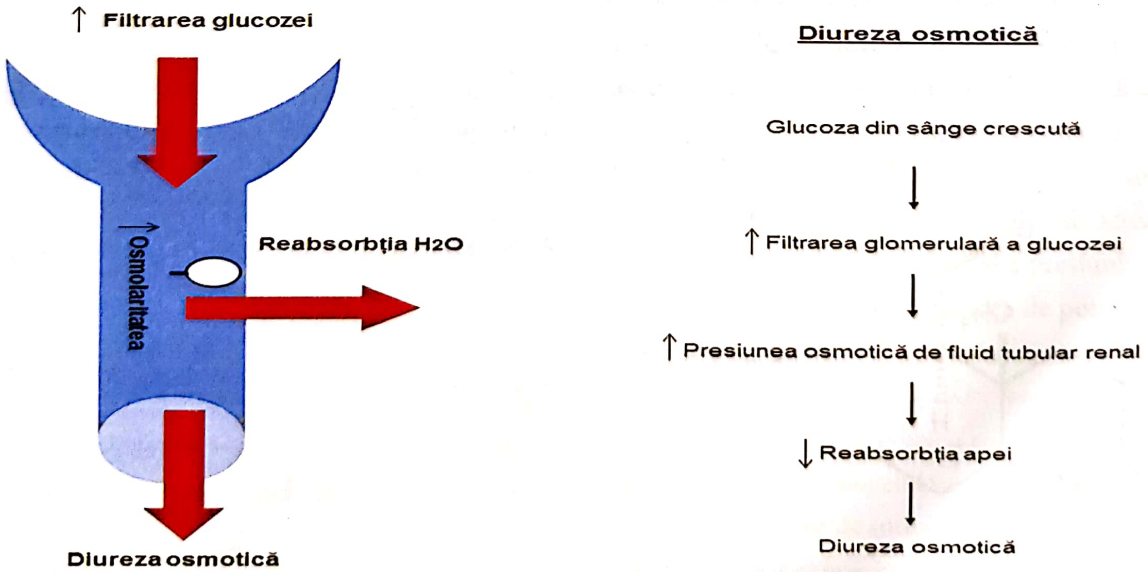


Fig. 15.25. Pacientii cu diabet zaharat prezintă o diureză osmotică datorită concentrației crescute a glucozei sanguine și a corpilor cetonici. Aceștia trec din sânge în filtratul glomerular și apoi în urină. Consecința diurezei osmotice este o hiperosmolaritate a filtratului glomerular ce atrage după sine o eliminare crescută de apă prin urina (poliurie).

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

Blaxter, K. Energy Metabolism in Animals and Man. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

C. Smith, A. Marks, M. Liebermann. Basic Med-ical Biochemistry. A clinical approach. Lippincot William & Wilkins, S.U.A, 2005.

Da Poian, A. T., El-Bacha, T. & Luz, M. R.M.P. (2010) Nutrient Utilization in Humans: Metabolism Pathways. Nature Education 3(9):11.

David E. Cummings and Joost Overduin (2007) Gastrointestinal regulation of food intake. J. Clin. Invest. 117:13–23.

David Nelson, Michael Cox. Lehninger Prin ciples of Biochemistry. W.H. Freeman, ediţia a3a, 2000. V. Kumar et al. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. A Saunders Title; ediţia a7a, 2005.

Georg Löffler, Petro Petrides, Biochemie und Pathobiochemie. Hardcover Publisher: Springer, 2014.

Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. Nat Rev Neurosci. 2006 7(5):335-46. Review.

Hansson G. Mechanisms of disease. Inflamma tion, atherosclerosis and and coronary artery disease NJM 352:1685-1995, 2005.

Hansson G. Mechanisms of disease. Inflamma tion, atherosclerosis and and coronary artery disease NJM 352:1685-1995, 2005.

Holmes, F. L. Lavoisier and the Chemistry of Life. Madison: University of Wisconsin Press, 1985. Krebs, H. Nobel Prize Lecture (1953). Nobelprize. org, 2010.

Kresge, N., Simoni, R. D., & Hill, R. L. ATP synthesis and the binding change mechanism: The work of Paul D. Boyer. Journal of Biological Chemistry 281, e18 (2006).

Lusk, G. The Elements of the Science of Nutrition, 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1931.

Luz, M. R. M. P. et al. Glucose as the sole metabolic fuel: The possible influence of formal teaching on the establishment of a misconception about the energy-yielding metabolism among Brazilian students. Biochemistry and Molecular Biology Education 36, 407–416 (2008) doi:10.1002/bmb.20235.

Scanned with OKEN Scanner

Luz, M. R. M. P. Glucose as the sole metabolic fuel: A study on the possible influence of teachers' knowl-edge on the establishment of a misconception among Brazilian high school stucents. Advances in Physio-logical Education 32, 225–230 (2008) doi:10.1152/advan.00050.2007.

Michael Lieberman, Allan Marks. Basic Medical Biochemistry. A ClinicalApproach. Third edition Lippincott, 2014.

Miriam D. Rosenthal & Robert H. Glew. Medical Biochemistry. Wiley A. John Wiley & Sons, 2009.

Noda M. & Sakuta H. (2013) Central regulation of body-fluid homeostasis. Trends in Neurosciences, Vol. 36, No. 11.

Oliveira, G. A. et al. Students' misconception about energy yielding metabolism: Glucose as the sole metabolic fuel. Advances in Physiological Education 27, 97–101. doi:10.1152/advan.00009, 2003.

Rodney Rhoades, David Bell. Medical Physiology. Principles for Clinical Medicine. Third edition. Lipincott, 2009.

Shlomo Melmed. Acromegaly. N. ENGL J MED 355; 24. Decembrie 2006.
Tony K. T. L. & Luciano R., Gary J.S. (2005) Hypo-thalamic sensing of fatty acids. Nature Neuroscience 5: 579-584.

Tony K T Lam, Gary J Schwartz & Luciano Rossett. Hypothalamic sensing of fatty acids. Nature Neuroscience 8, 579 - 584 (2005).

V. Kumar et al. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease. A Saunders Title; ediţia a7a, 2005.

Vicenzo M. & Isabel M. (2005) Endocan-nabinoid control of food intake and energy balance. Nature Neurosciences 8, 585-589.

Wikipedia: https://en.wikipedia.org/

BIBLIOTECA JUDETEANA
„GH.ASACHI"
IASI

Scanned with OKEN Scanner

ISBN 978-606-11-6672-5

158.00

Scanned with OKEN Scanner